

Anaerobes Wachstum von *Corynebacterium glutamicum* durch gemischte Säurefermentation

Andrea Michel

Forschungszentrum Jülich GmbH
Institut für Bio-und Geowissenschaften
Biotechnologie (IBG-1)

Anaerobes Wachstum von *Corynebacterium glutamicum* durch gemischte Säurefermentation

Andrea Michel

Schriften des Forschungszentrums Jülich
Reihe Gesundheit / Health

Band / Volume 77

ISSN 1866-1785

ISBN 978-3-95806-010-4

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek.
Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der
Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte Bibliografische Daten
sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Herausgeber
und Vertrieb: Forschungszentrum Jülich GmbH
Zentralbibliothek, Verlag
52425 Jülich
Tel.: +49 2461 61-5368
Fax: +49 2461 61-6103
E-Mail: zb-publikation@fz-juelich.de
www.fz-juelich.de/zb

Umschlaggestaltung: Grafische Medien, Forschungszentrum Jülich GmbH

Druck: Grafische Medien, Forschungszentrum Jülich GmbH

Copyright: Forschungszentrum Jülich 2014

Schriften des Forschungszentrums Jülich
Reihe Gesundheit / Health, Band / Volume 77

D 61 (Diss. Düsseldorf, Univ., 2014)

ISSN 1866-1785

ISBN 978-3-95806-010-4

Vollständig frei verfügbar über das Publikationsportal des Forschungszentrums Jülich (JuSER)
unter www.fz-juelich.de/zb/openaccess.

Alle Rechte vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf in irgendeiner Form (Druck, Fotokopie oder
in einem anderen Verfahren) ohne schriftliche Genehmigung des Verlages reproduziert oder
unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Inhaltsverzeichnis

1.	Summary	- 9 -
2.	Zusammenfassung.....	- 11 -
3.	Einleitung.....	- 13 -
3.1	Anaerober Metabolismus und anaerobe Produktion von <i>C. glutamicum</i>	- 14 -
3.2	Atmungskette und anaerobe Atmung von <i>C. glutamicum</i>	- 16 -
3.3	Ziel der Arbeit.....	- 19 -
4.	Material und Methoden	- 20 -
4.1	Pufferlösungen und andere Stammlösungen	- 20 -
4.2	Nährmedien.....	- 20 -
4.3	Oligonukleotide und Plasmide	- 21 -
4.4	Bakterienstämme	- 22 -
4.5	Stammhaltung von Bakterienstämmen	- 23 -
4.6	Kultivierung von <i>C. glutamicum</i>	- 23 -
4.6.1	Kultivierung unter aeroben Bedingungen in Schüttelkolben.....	- 23 -
4.6.2	Kultivierung unter anaeroben Bedingungen auf Agarplatten.....	- 24 -
4.6.3	Kultivierung unter anaeroben Bedingungen in Serumflaschen	- 24 -
4.6.4	Kultivierung unter anaeroben Bedingungen im Bioreaktor.....	- 24 -
4.7	Kultivierung von <i>E. coli</i>	- 25 -
4.8	Bestimmung des Wachstums von Bakterien.....	- 25 -
4.9	Bestimmung der Biotrockenmasse	- 26 -
4.10	Molekularbiologische Methoden	- 26 -
4.10.1	Isolierung von genomischer DNA.....	- 26 -
4.10.2	Isolierung von Plasmid-DNA.....	- 27 -
4.10.3	DNA bzw. RNA-Konzentrationsbestimmung	- 27 -
4.10.4	DNA-Agarose-Gelelektrophorese.....	- 27 -
4.10.5	Restriktionsverdau	- 28 -
4.10.6	Ligation.....	- 28 -
4.10.7	Polymerasekettenreaktion.....	- 28 -
4.10.8	PCR-Purification-Kit	- 29 -
4.10.9	DNA-Sequenzanalyse	- 29 -
4.10.10	Herstellung und Transformation kompetenter <i>E. coli</i> -Zellen	- 29 -

4.10.11	Herstellung und Transformation kompetenter <i>C. glutamicum</i> -Zellen.....	30 -
4.11	Proteinbiochemische Methoden.....	31 -
4.11.1	Proteinbestimmung nach Bradford.....	31 -
4.11.2	Präparation von Zellmembranen	31 -
4.11.3	F ₁ F ₀ -ATP-Synthase-Aktivitätsmessung	32 -
4.12	Genexpressionsanalysen mittels DNA-Microarrays.....	32 -
4.12.1	Isolierung von RNA.....	32 -
4.12.2	Synthese fluoreszenzmarkierter cDNA-Sonden	33 -
4.12.3	DNA-Chip-Hybridisierung	34 -
4.12.4	Bestimmung der Fluoreszenz von DNA-Chips.....	35 -
4.12.5	Auswertung der DNA-Microarray-Experimente.....	35 -
4.13	HPLC-Methoden	36 -
4.13.1	Bestimmung von extrazellulärer Glucose und organischen Säuren mittels HPLC.....	36 -
4.13.2	Bestimmung von Aminosäuren mittels HPLC.....	37 -
4.14	Intrazelluläre pH-Bestimmung	37 -
4.15	Mikroskopische Methoden	40 -
4.16	Zellgrößenanalyse	40 -
5	Ergebnisse.....	41 -
5.1	Anaerobe Verstoffwechselung und anaerobes Wachstum von <i>C. glutamicum</i> mit unterschiedlichen C-Quellen	41 -
5.2	Co-Verstoffwechselung von Gluconat und Pyruvat von <i>C. glutamicum</i> unter anaeroben Bedingungen	43 -
5.3	Einfluss von Medienzusätzen auf das anaerobe Wachstum mit Glucose.....	46 -
5.4	Einfluss der Hämoxygenase auf das anaerobe Wachstum von <i>C. glutamicum</i>	59 -
5.5	Einfluss der F ₁ F ₀ -ATP-Synthase auf das anaerobe Wachstum von <i>C. glutamicum</i>	61 -
5.6	Bestimmung des pH-Toleranzbereichs und Untersuchung der pH-Homöostase von anaerob kultivierten <i>C. glutamicum</i> -Zellen.....	63 -
5.7	Abhängigkeit der Fettsäure- und Mycolsäurebiosynthese und der anaplerotischen Reaktionen von Kohlenstoffdioxid in anaeroben <i>C. glutamicum</i> -Zellen	68 -
5.8	Untersuchung der anaeroben Wachstumsinhibierung.....	70 -
5.8.1	Untersuchung des Wachstumsverhaltens von <i>C. glutamicum</i> Wildtyp bei einem Wechsel von anaeroben zu aeroben Bedingungen	71 -
5.8.2	Wachstumsuntersuchung in Serumflaschen mit zellfreiem Mediumsüberstand von anaerob gewachsenen Bioreaktorkulturen.....	72 -
5.8.3	Einfluss der Gärprodukte auf das anaerobe Wachstum	74 -
5.8.4	Kultivierung von <i>C. glutamicum</i> $\Delta actA \Delta p q o \Delta p t a - a c k A$	75 -

5.8.5	Fortlaufende Überimpfung von <i>C. glutamicum</i> im Bioreaktor und Bestimmung der Zellgröße.....	- 76 -
5.9	Zeitabhängiges Genexpressionsprofil von <i>C. glutamicum</i> während des Übergangs von aeroben zu anaeroben Bedingungen	- 78 -
5.10	Anaerobe Produktion von Aminosäuren mit <i>C. glutamicum</i>	- 87 -
5.10.1	Anaerobe Produktion von Lysin mit <i>C. glutamicum</i>	- 87 -
5.10.2	Anaerobe Produktion von Leucin und Valin mit <i>C. glutamicum</i>	- 88 -
6	Diskussion.....	- 89 -
6.1	Anaerobes Wachstum von <i>C. glutamicum</i>	- 89 -
6.2	Protonentranslokation und die damit verbundene pH-Homöostase von <i>C. glutamicum</i> unter anaeroben Bedingungen	- 95 -
6.3	Inhibierung des Wachstum unter anaeroben Bedingungen	- 101 -
6.4	Genexpressionsprofil von <i>C. glutamicum</i> unter anaeroben Bedingungen	- 104 -
6.5	Aminosäureproduktion mit anaeroben <i>C. glutamicum</i> -Zellen	- 107 -
	Literaturverzeichnis.....	- 110 -
	Anhang..	- 117 -

Abkürzungen

μ	Wachstumsrate
AS	Aminosäure
ATCC	American Type Culture Collection
BHIS	Brain Heart Infusion – Sorbitol
bidest.	bidestilliert
BTM	Biotrockenmasse
Da	Dalton
DCCD	N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid
dNTP	Desoxynucleosidtriphosphat
<i>et al.</i>	<i>et alii</i> (und andere)
FNR	Fumarat-Nitrat-Reduktase
<i>g</i>	Erdbeschleunigung (9,81 m/s)
GFP	grünes Fluoreszenzprotein
Glu	Glucose
IPTG	Isopropyl-thio-β-D-galactopyranosid
LB	Luria-Bertani
Ldh	Lactat-Dehydrogenase
MCS	Multiple Cloning Site
Mdh	Malat-Dehydrogenase
MOPS	3- <i>N</i> -Morpholinopropansulfonsäure
Ndh	NADH-Dehydrogenase
OD ₆₀₀	optische Dichte bei einer Wellenlänge von 600 nm
PPP	Pentosephosphatweg
PEP	Phosphoenolpyruvat
pH _e	extrazellulärer pH
pH _i	intrazellulärer pH
PMK	protonenmotorische Kraft
RT	Raumtemperatur
SOC	Super optimal Broth mit Glucose
TA	Transaminase
Upm	Umdrehungen pro Minute
ÜN	über Nacht

v/v	Volumen pro Volumen
WT	Wildtyp
w/v	Gewicht pro Volumen

Weitere Abkürzungen, die hier nicht aufgeführt sind, stimmen mit den internationalen Standards überein, wie sie zum Beispiel in den Autorenrichtlinien des *FEBS Journal* aufgeführt sind.

1. Summary

Corynebacterium glutamicum is able to grow under anaerobic conditions with nitrate as electron acceptor, but only very low cell densities are attainable because of the toxic nitrite that cannot be efficiently metabolized by *C. glutamicum*. Furthermore it is known that *C. glutamicum* is metabolically active under oxygen-free conditions and produces lactate, succinate, and acetate from glucose. However, fermentative anaerobic growth of *C. glutamicum* has not been described, yet. In this work, the ability of *C. glutamicum* for fermentative growth and amino acid production under anaerobic conditions was explored. The following results were obtained:

1. *C. glutamicum* wild type was able to grow anaerobically in minimal medium in serum bottles with glucose, fructose, sucrose, and ribose as sole carbon and energy source and forms lactate, succinate, and acetate as products. The optical density at 600 nm (OD₆₀₀) increased from 1.0 to 1.9 (sucrose), 2.2 (glucose), and 2.7 (fructose and ribose). The cells could not grow with gluconate, pyruvate, lactate, acetate, and propionate. Growth experiments in glucose-minimal-medium supplemented with differently composed amino acid mixes indicated that energy limitation is one of the reasons for poor anaerobic growth. The anaerobic production of amino acids (lysine, leucine, and valine) with strains developed for aerobic production was not possible under the tested conditions.
2. Anaerobic fermentative growth in glucose minimal medium could be improved from OD₆₀₀ 1.0 to 11.8 by the addition of peptides. The peptides were presumably taken up by the cells and, after hydrolysis to amino acids, used predominantly for protein synthesis. Consequently, less amino acids had to be synthesized *de novo* and the cells saved energy in form of ATP, which could be used e.g. for building up proton motive force or for pH homeostasis. The *C. glutamicum* mutant $\Delta actA\Delta pqo\Delta pta\Delta ackA$, which lacks all genes currently known to be involved in acetate formation, could grow to higher cell densities (OD₆₀₀ = 16.8) in glucose minimal medium supplemented with peptides in the bioreactor than the wild type (OD₆₀₀ = 12.7). This mutant produced 64% less acetate per CDW (cell dry weight) than the wild type. It is known that acetate can act as an uncoupler and therefore inhibits growth.
3. Growth experiments in the bioreactor in glucose minimal medium at constant extracellular pH values showed that under anaerobic conditions the pH tolerance range of *C. glutamicum* was drastically reduced (pH 6.5 to 8.0) in comparison to aerobic conditions (pH 4.0 to 10.0). The intracellular pH analysis of *C. glutamicum* pEKEx2_pHluorin with the pH-sensitive fluorescence protein pHluorin revealed that pH homeostasis occurred much slower and the intracellular pH did not reach the same value after a shift to acidic conditions under anaerobic conditions. Under aerobic conditions the protons which enter the cell under acidic conditions can be pumped out effectively and quickly by the respiratory chain. Under anaerobic fermentative conditions this type

of proton export is severely limited, because succinate:menachinone-oxidoreductase is the only respiratory enzyme that remains active and catalyzes export of protons. However, the rate of this enzyme is probably not sufficient for an efficient pH homeostasis.

4. Anaerobic growth experiments in glucose minimal medium with *C. glutamicum* wild type, *C. glutamicum* ΔF_1F_o , and *C. glutamicum* AtpG-S273P showed that the two mutants reached a higher cell density ($OD_{600} = 3.6$ and 3.9 , respectively) than the wild type ($OD_{600} = 2.1$) in medium without tryptone. When cultivated in medium with tryptone, the wild type reached a higher cell density ($OD_{600} = 11.8$) than the two mutants ($OD_{600} = 6.9$ and 7.4). It is assumed that under anaerobic conditions the F_1F_o -ATP synthase of *C. glutamicum* most likely hydrolyses ATP to pump protons out of the cell to allow pH homeostasis and to generate proton motive force.
5. Transcriptome studies with *C. glutamicum* wild type comparing global gene expression before and after a switch from aerobic to anaerobic conditions showed that the mRNA level of genes of the glycolytic pathway and of cytochrome *bd* oxidase was higher, whereas the mRNA level of genes for the cytochrome *bc₁-aa₃* supercomplex and for F_1F_o -ATP synthase was lower. This showed that the metabolism changed drastically after such a switch in oxygen availability. Furthermore, nine known and 21 putative transcriptional regulators showed altered expression after the switch, which at least in part should be responsible for the adaption to anaerobic conditions. A master regulator for oxygen availability could not be identified.

2. Zusammenfassung

Corynebacterium glutamicum kann unter anaeroben Bedingungen mit Nitrat als terminalem Elektronenakzeptor wachsen, jedoch werden auf Grund des toxischen Nitrits, das von *C. glutamicum* nicht weiter verstoffwechselt werden kann, nur sehr geringe Zelldichten erreicht. Weiterhin ist bekannt, dass *C. glutamicum* unter sauerstofffreien Bedingungen metabolisch aktiv ist und Lactat, Succinat und Acetat aus Glucose produziert. Jedoch wurde das fermentative anaerobe Wachstum von *C. glutamicum* in der Literatur bis heute nicht beschrieben. In dieser Arbeit wurde die Fähigkeit von *C. glutamicum* erforscht, unter anaeroben Bedingungen fermentativ zu wachsen und Aminosäuren zu produzieren. Folgende Ergebnisse wurden erhalten:

1. Der *C. glutamicum*-Wildtyp konnte unter anaeroben Bedingungen (Serumflaschen mit N₂-Gasphase) in Minimalmedium mit Glucose, Fructose, Saccharose oder Ribose wachsen. Die OD₆₀₀ stieg von 1,0 auf 1,9 (Saccharose), 2,2 (Glucose) und 2,7 (Fructose und Ribose) und die Zellen produzierten Lactat, Succinat und Acetat. Die Zellen konnten jedoch nicht mit Gluconat, Pyruvat, Lactat, Acetat und Propionat wachsen. Wachstumsuntersuchungen in Glucose-Minimalmedium, das mit verschiedenen Aminosäuremischungen supplementiert wurde, deuteten darauf hin, dass Energielimitierung einer der entscheidenden Gründe für das schlechte anaerobe Wachstum ist. Die anaerobe Produktion von Aminosäuren (Lysin, Leucin und Valin) mit Stämmen, die für die aerobe Produktion konstruiert worden waren, war unter den gewählten Bedingungen nicht möglich.
2. Unter anaeroben Bedingungen konnte durch Zugabe von Peptiden in Glucose-Minimalmedium eine Wachstumssteigerung von OD₆₀₀ 1,0 auf 11,8 erzielt werden. Die Peptide werden in die *C. glutamicum*-Zelle aufgenommen und zu Aminosäuren hydrolysiert, die höchstwahrscheinlich überwiegend zur Synthese von Proteinen verwendet werden. Demzufolge müssen weniger Aminosäuren *de novo* synthetisiert werden, wodurch die Zelle ATP für die Aminosäurebiosynthese einspart und außerdem einen höheren Anteil der Glucose zur Energiegewinnung nutzen kann. Diese verbesserte Energieversorgung kann von Zelle zum Wachstum und zur pH-Homöostase verwendet werden. Die *C. glutamicum*-Mutante $\Delta actA \Delta pqa \Delta pta-ackA$, in der alle bekannten Gene für die Acetat-Bildung deletiert wurden, erreichte im Bioreaktor eine höhere maximale optische Dichte (OD₆₀₀ = 16,8) in Glucose-Minimalmedium mit Peptiden als der Wildtyp (OD₆₀₀ = 12,7). Diese Mutante produzierte 64% weniger Acetat pro BTM als der Wildtyp. Es ist bekannt, dass Acetat als Entkoppler des Protonengradienten wirken kann und daher das Wachstum inhibiert.
3. Durch Wachstumsversuche in Glucose-Minimalmedium im Bioreaktor bei konstanten extrazellulären pH-Werten wurde festgestellt, dass der pH-Toleranzbereich unter anaeroben Bedingungen stark reduziert ist (pH 6,5 bis 8,0) im Vergleich zu aeroben Bedingungen (pH 4,0 bis 10,0). Die intrazelluläre pH-Bestimmung in

C. glutamicum/pEKEx2_pHluorin mit dem pH-sensitiven Fluoreszenzprotein pHluorin ergab, dass die pH-Homöostase unter anaeroben Bedingungen viel langsamer ist und der intrazelluläre pH nach einem Wechsel zu sauren extrazellulären pH-Werten geringer ist als unter aeroben Bedingungen. Die Protonen, die bei einem sauren extrazellulären pH in die Zelle gelangen, können unter aeroben Bedingungen über die Atmungskette schnell und effizient wieder aus der Zelle gepumpt werden. Unter anaeroben Bedingungen ist dies nur eingeschränkt möglich, da weder Sauerstoff noch Nitrat als Elektronenakzeptoren für die Atmungskette vorhanden sind. Lediglich bei der Reduktion von Fumarat zu Succinat durch die Succinat:Menachinon-Oxidoreduktase können zwei Protonen über die Membran nach außen transferiert werden. Jedoch ist der Kohlenstofffluss durch dieses Enzym wahrscheinlich nicht ausreichend für eine effiziente Protonentranslokation.

4. Untersuchungen des anaeroben Wachstums von *C. glutamicum* Wildtyp, *C. glutamicum* ΔF_1F_0 und *C. glutamicum* AtpG-S273P in Glucose-Minimalmedium zeigten, dass der Wildtyp in Medium ohne Trypton eine niedrigere maximale optische Dichte erreichte ($OD_{600} = 2,1$) als die beiden Mutanten ($OD_{600} = 3,6$ bzw. $3,9$), wohingegen in Medium mit Trypton der Wildtyp eine höhere optische Dichte ($OD_{600} = 11,8$) erreichte als die beiden Mutanten ($OD_{600} = 6,9$ bzw. $7,4$). Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die F_1F_0 -ATP-Synthase in *C. glutamicum* unter anaeroben Bedingungen höchstwahrscheinlich als ATPase fungiert und ATP hydrolysiert, um Protonen aus der Zelle zu pumpen, um so die pH-Homöostase aufrechtzuerhalten sowie protonenmotorische Kraft aufzubauen.
5. Es wurden DNA-Microarray-basierte Transkriptomanalysen mit dem *C. glutamicum*-Wildtyp bei einem Wechsel von aeroben zu anaeroben Bedingungen durchgeführt. Dabei konnte gezeigt werden, dass die mRNA-Spiegel von Glykolysegenen und von Genen der Cytochrom *bd*-Oxidase erhöht waren, während die mRNA-Spiegel von Genen des Cytochrom-*bc₁-aa₃*-Superkomplexes und der F_1F_0 -ATP-Synthase erniedrigt waren. Diese Resultate zeigten, dass sich der Metabolismus bei Umstellung von aeroben auf anaerobe Bedingungen grundlegend änderte. Weiterhin konnten 9 bekannte und 21 putative Transkriptionsregulatoren identifiziert werden, die nach einem Wechsel von aeroben zu anaeroben Bedingungen unterschiedlich exprimiert wurden und zumindest teilweise für die Anpassung des Stoffwechsels an anaerobe Bedingungen verantwortlich waren. Ein Masterregulator für die Anpassung von *C. glutamicum* an die Sauerstoffverfügbarkeit konnte nicht identifiziert werden.

3. Einleitung

Corynebacterium glutamicum wurde erstmals im Jahr 1956 im Rahmen eines Screenings nach L-Glutamat-ausscheidenden Mikroorganismen beschrieben (Kinoshita *et al.*, 1957; Udaka, 1960). Das Gram-positive und biotin-auxotrophe Bodenbakterium gehört zur Ordnung der Actinomyceten und dient als Modellorganismus für die verwandten humanpathogenen Spezies *Corynebacterium diphtheriae*, *Mycobacterium tuberculosis* und *Mycobacterium leprae* (Eggeling und Bott, 2005). Seit seiner Entdeckung wird es zur biotechnologischen Produktion von Aminosäuren benutzt. Heutzutage werden mit Produktionsstämmen jährlich bis zu 2,3 Millionen Tonnen Glutamat sowie 1,5 Millionen Tonnen L-Lysin produziert. Glutamat dient als Geschmacksverstärker in der Lebensmittelindustrie und L-Lysin wird als Futtermitteladditiv verwendet (Hermann, 2003; Kinoshita, 2005). In seinem natürlichen Habitat, dem Boden, muss sich das Bakterium immer wieder veränderten Umweltbedingungen anpassen. Diese Veränderungen können beispielsweise Temperatur oder die Verfügbarkeit von Substrat oder Sauerstoff sein. Hier reicht das Spektrum von aeroben über mikroaerobe bis hin zu anaerobe Bedingungen (Nishimura *et al.*, 2007). Die meisten *Corynebacterium*-Spezies sind fakultativ anaerob (Liebl, 2006), wobei *C. glutamicum* heutzutage ebenfalls als fakultativ anaerobes Bakterium beschrieben wird. In sauerstoffhaltiger Umgebung betreibt es aerobe Atmung um ATP, das zum Wachstum nötig ist, zu generieren. In sauerstofffreier Umgebung betreibt es eine gemischte Säuregärung, wobei es die Gärprodukte Lactat, Succinat und Acetat ins Medium sekretiert (Dominguez *et al.*, 1993; Inui *et al.*, 2004). Die Gärung ermöglicht ATP-Bildung über die Substratkettenphosphorylierung, daher sollte Wachstum in sauerstofffreier Umgebung möglich sein. Jedoch zeigt *C. glutamicum* in sauerstofffreiem Minimalmedium kaum Wachstum (Nishimura *et al.*, 2007; Takeno *et al.*, 2007).

3.1 Anaerober Metabolismus und anaerobe Produktion von *C. glutamicum*

Werden aerob gewachsene *C. glutamicum*-Zellen unter anaerobe Bedingungen gesetzt zeigen sie ein sehr geringes Wachstum, die Zellen verdoppeln sich lediglich ein Mal obwohl sie metabolisch aktiv bleiben und eine gemischte Säuregärung mit den Produkten Lactat, Succinat und Acetat machen (Dominguez *et al.*, 1993; Inui *et al.*, 2004; Nishimura *et al.*, 2007; Takeno *et al.*, 2007). Bei der Umstellung auf anaerobe Fermentation verändert sich die Transkriptionsmenge einiger Gene, die für Enzyme des Zentralmetabolismus codieren. Gene von Schlüsselenzymen der Glycolyse, der organischen Säureproduktion und des TCA-Zyklus, wie Glyceraldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase (*gapA*), Phosphoglycerat-Kinase (*pgk*), Triosephosphat-Isomerase (*tpi*), Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase (*pck*), Malat-Dehydrogenase (*mdh*) und Lactat-Dehydrogenase (*ldhA*) werden unter anaeroben Bedingungen signifikant erhöht transkribiert. Die dazugehörigen Enzymaktivitäten stimmen mit dem genetischen Expressionsmuster überein (Inui *et al.*, 2007). Diese erhöhte Enzymaktivität macht einen erhöhten Kohlenstofffluss durch die Glykolyse und den TCA-Zyklus möglich, was eine erhöhte Produktivität von Gärprodukten nach sich zieht. Da *C. glutamicum* diese hohe Produktivität über einen Zeitraum von mindestens 350 h aufrecht erhalten kann, ist *C. glutamicum* ein geeigneter industrieller Produktionsstamm (Okino *et al.*, 2005). Es wurden *C. glutamicum* Stämme mit Hilfe des „metabolic engineering“ für die anaerobe Produktion von z.B. Lactat (Okino *et al.*, 2008b), Isobutanol (Blombach *et al.*, 2011) oder Succinat (Litsanov *et al.*, 2012a; Okino *et al.*, 2008a) konstruiert. Für diese Produktionsprozesse werden aerob gewachsene Zellen in hohen Dichten unter anaeroben Bedingungen inkubiert. Unter diesen Bedingungen ruhen die Zellen, das heißt sie wachsen nicht, bleiben aber metabolisch aktiv, produzieren und sekretieren die oben genannten Produkte.

Der Tricarbonsäure (TCA)-Zyklus unter anaeroben Bedingungen

Bei der Verstoffwechslung von Zuckern, Fetten und Aminosäuren entsteht Acetyl-CoA, das im oxidativen TCA-Zyklus zu Kohlenstoffdioxid und Wasser abgebaut wird (Abbildung 1A). Die dabei freigesetzte Energie wird in den reduzierten Elektronencarriern NADH und FADH₂ konserviert, wobei diese wiederum die Protonen und Elektronen an die Atmungskette abgeben. Die meisten aeroben Bakterien nutzen den oxidativen TCA-Zyklus.

Anaerobe Bakterien nutzen einen unvollständigen TCA-Zyklus nicht zur Energiegewinnung, sondern zur Gewinnung von biosynthetischen Vorstufen. Sie nutzen die ersten drei Enzyme des Zyklus um α -Ketoglutarat zu gewinnen, können aber aus α -Ketoglutarat kein Succinyl-CoA produzieren, da ihnen die α -Ketoglutarat-Dehydrogenase fehlt. Weiterhin können diese Bakterien durch eine Umkehrung der oxidativen Richtung in eine reduktive Richtung aus Oxalacetat Malat, Fumarat, Succinat und Succinyl-CoA synthetisieren.

Es ist bekannt, dass *C. glutamicum* unter anaeroben Bedingungen Phosphoenolpyruvat (PEP) zu Oxalacetat (OAA) mit Hilfe der Phosphoenolpyruvat-Carboxylase (Pck) umwandelt. Dabei ist zu erwähnen, dass unter anaeroben Bedingungen die Pck das Hauptanapleroseenzym ist (Inui *et al.*, 2004), wohingegen unter aeroben Bedingungen es die Pyruvat-Carboxylase (Pyc) ist (Peters-Wendisch *et al.*, 2001). OAA wird weiter über den reduktiven TCA-Zyklus bis Succinat metabolisiert. Hierbei wird OAA hauptsächlich über die Malat-Dehydrogenase (Mdh) zu Malat umgewandelt. Malat wird zu Fumarat und weiter zu Succinat, was das Endprodukt des anaeroben TCA-Zyklus ist, umgewandelt (Abbildung 1B).

Die Regeneration von NAD^+ ist für *C. glutamicum* in Abwesenheit von Sauerstoff oder eines anderen Elektronenakzeptors überlebensnotwendig. Die NADH -abhängige L-Lactat-Dehydrogenase (LdhA) reduziert Pyruvat zu Lactat um NAD^+ zu regenerieren. Ein zweiter NAD^+ -regenerierender Prozess könnte im Tricarbonsäure (TCA)-Zyklus bei der Umwandlung von Oxalacetat zu Malat durch die Malat-Dehydrogenase (Mdh) stattfinden (Molenaar *et al.*, 2000): Diese Hypothese wird von der Tatsache gestützt, dass nur die Gene, die für den oxidativen Arm des TCA-Zyklus codieren, unter anaeroben Bedingungen verringert transkribiert werden (Inui *et al.*, 2007).

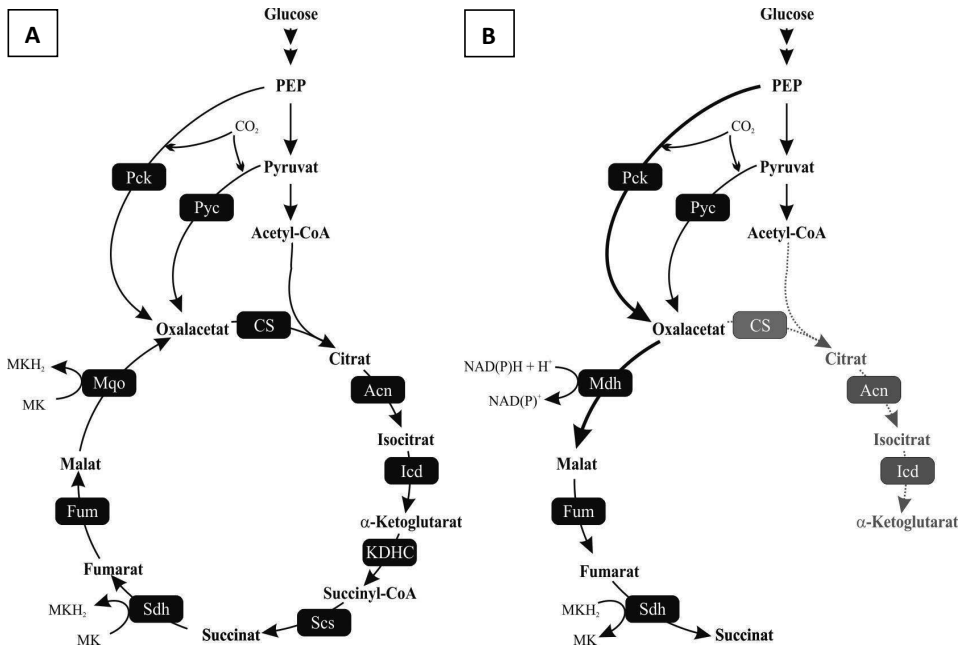


Abbildung 1: TCA-Zyklus von *C. glutamicum* unter aeroben (A) und anaeroben (B) Bedingungen. Unter aeroben Bedingungen nutzt *C. glutamicum* den vollständigen oxidativen TCA-Zyklus. Unter anaeroben Bedingungen wird der TCA-Zyklus in reduktiver Richtung von Oxalacetat bis zu Succinat genutzt und in oxidativer Richtung von Acetyl-CoA bis α -Ketoglutarat. Die Gene, die für den oxidativen Arm codieren, werden unter anaeroben Bedingungen verringert transkribiert.

3.2 Atmungskette und anaerobe Atmung von *C. glutamicum*

Molekulare und biochemische Analysen und Informationen von der Genomsequenzierung haben in den letzten Jahren gezeigt, dass *C. glutamicum* eine verzweigte Atmungskette besitzt (Bott und Niebisch, 2003). Bei der Oxidation von Kohlenstoffquellen im Zentralstoffwechsel werden die Reduktionsäquivalente auf Menachinon (MK) via NADH-Dehydrogenase (NADH-DH) übertragen (Abbildung 2). Vom Menachinol werden die Elektronen entweder an die Hämgruppen, Eisen-Schwefel-Cluster und Kupferionen des Cytochrom-*bc*₁-*aa*₃-Superkomplexes oder an die Hämgruppen der Cytochrom-*bd*-Oxidase weiter gegeben (Bott und Niebisch, 2003). Es wurde vermutet, dass der *bc*₁-*aa*₃-Superkomplex effizienter in der Protonentranslokation ist (*bc*₁-*aa*₃: $6 \text{ H}^+ / 2 \text{ e}^-$, *bd*: $2 \text{ H}^+ / 2 \text{ e}^-$), jedoch eine niedrigere Sauerstoffaffinität als die *bd*-Oxidase aufweist (Kabus *et al.*, 2007b; Niebisch und Bott, 2003). Weder der Superkomplex noch die *bd*-Oxidase ist essentiell für das Wachstum von *C. glutamicum* (Kabus *et al.*, 2007b; Niebisch und Bott, 2003). Es konnte ein

Stamm konstruiert werden, dem die Gene des bc_1 -Komplexes und der bd -Oxidase fehlt (genannt „DOOR“ - devoid of oxygen respiration). In Glucose-Minimalmedium zeigte dieser Stamm kaum Wachstum, das heißt die optische Dichte bei 600 nm erhöhte sich von 1,1 auf 1,9. Durch Zugabe von Pepton zum Medium konnte das Wachstum deutlich verbessert werden (von 1,9 auf 9,5). Die Bestimmung der Gelöstsauerstoffkonzentration im Medium von DOOR bestätigte, dass der Stamm keine aerobe Atmung betrieb. Die Tatsache, dass die Sauerstoffaufnahme von DOOR lediglich 2% des Wildtyps betrug zeigte, dass *C. glutamicum* keine alternative terminale Oxidase neben der Cytochrome- aa_3 -Oxidase und Cytochrom- bd -Oxidase besitzt. Die Analyse des Überstands während der Kultivierung von DOOR ergab, dass die Mutante die aufgenommene Glucose in Lactat, Acetat und Succinat verstoffwechselt. Somit ist *C. glutamicum* in der Lage, in Abwesenheit einer funktionierenden Atmungskette durch eine gemischte Säuregärung Biomasse aufzubauen, wobei das benötigte ATP ausschließlich durch Substratkettenphosphorylierung während der Glykolyse und der Acetatproduktion bereitgestellt wird. Das ATP wird für das Wachstum benötigt, jedoch wird es vermutlich auch zum Aufbau der PMK und/oder zur pH-Homöostase verwendet, in dem die F_1F_0 -ATP-Synthase ATP hydrolysiert um Protonen aus der Zelle zu pumpen. Daher ist der ATP-Gehalt im DOOR Stamm vermutlich viel geringer als im Wildtyp, was das verringerte Wachstum des DOOR Stamms erklären würde. Durch die Supplementierung mit Pepton kann diese Energielimitierung zum Teil aufgehoben werden, da die Peptide aufgenommen und für die Proteinsynthese verwendet werden können. Somit wäre eine energieverbrauchende de-novo-Synthese von Aminosäuren nicht mehr nötig (Koch-Körfges *et al.*, 2013).

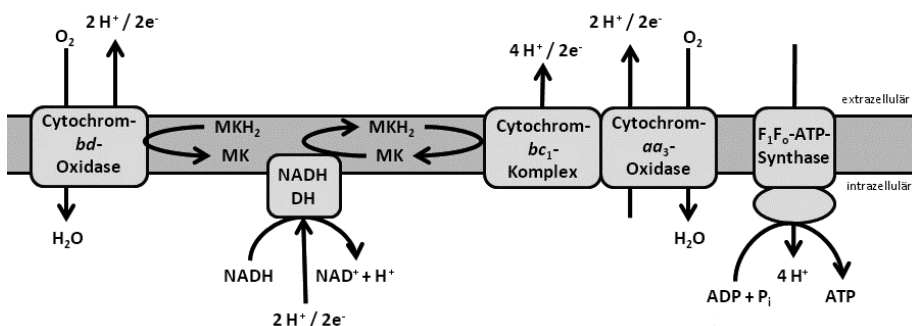


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Atmungskette und der oxidativen Phosphorylierung in *C. glutamicum* basierend auf (Bott und Niebisch, 2003).

Die anaerobe Atmung von *C. glutamicum*

Neben Sauerstoff stehen einigen Bakterien je nach Proteinrepertoire alternative terminale Elektronenakzeptoren zur Verfügung. Zum Beispiel können einige Bakterien Denitrifikation betreiben. Dies ist ein Prozess bei dem der in Nitrat (NO_3^-) gebundene Stickstoff zu molekularem Stickstoff (N_2) und Stickoxiden umgewandelt wird. Dieser Vorgang wird durch membrangebundene Proteine katalysiert, die die freiwerdende Energie in Form eines Protonenkonzentrationsgradientens konservieren (Zumft, 1997). Sowohl *C. glutamicum* R als auch *C. glutamicum* ATCC 13032 sind in der Lage, mit Nitrat als Elektronenakzeptor unter anaeroben Bedingungen zu wachsen, die optische Dichte erhöht sich von 0,05 auf 1 (Nishimura *et al.*, 2007; Takeno *et al.*, 2007). Hierbei reduzieren sie das Nitrat zu Nitrit (Abbildung 3), das jedoch nicht weiter umgewandelt werden kann, da im Genom von *C. glutamicum* keine Nitritreduktase codiert ist (Bott und Niebisch, 2003; Ikeda und Nakagawa, 2003; Kalinowski *et al.*, 2003; Nishimura *et al.*, 2007; Takeno *et al.*, 2007). Das Nitrit ist toxisch für die Zellen, es reagiert mit den Eisenatomen in eisenhaltigen Enzymen der Zellatmung wodurch die Zellatmung blockiert ist (Bowman *et al.*, 2011). Somit ist das Wachstum von *C. glutamicum* mit Nitratatmung auf Grund der Akkumulation von Nitrit stark limitiert.

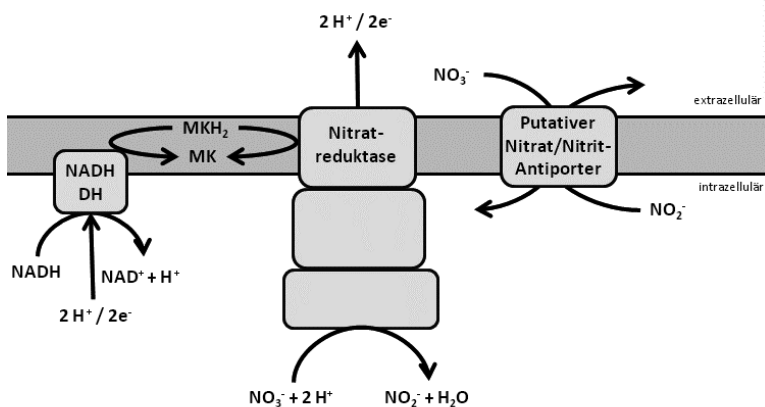


Abbildung 3: Schematische Darstellung der Nitratatmung von *C. glutamicum*.

3.3 Ziel der Arbeit

In den letzten Jahren wurden zwei für diese Arbeit wichtige Beobachtungen gemacht: (i) *C. glutamicum* wächst mit Nitrat als alternativem Elektronenakzeptor unter anaeroben Bedingungen. (ii) Eine *C. glutamicum* Mutante, die keine funktionierende Atmungskette besitzt, betreibt unter aeroben Bedingungen eine gemischte Säuregärung und zeigt ein minimales Wachstum in Glucose-Minimalmedium. Auf Grund dieser zwei Beobachtungen sollte im Rahmen dieser Doktorarbeit Wissen über das potentielle anaerobe Wachstum ohne Nitrat erlangt werden.

- Ziel dieser Arbeit war es, das Potential von *C. glutamicum* zum anaeroben Wachstum zu erforschen. Ausgangspunkt sollte die Nutzung verschiedener Kohlenstoffquellen (Glucose, Fructose, Saccharose, Ribose, Gluconat, Pyruvat, Lactat, Acetat und Propionat) sein. Dabei sollten sie einzeln und in Kombination getestet werden. Die Abnahme der Kohlenstoffquellen sowie die Produktbildung sollte mittels HPLC analysiert und der Einfluss des pH-Werts auf das anaerobe Wachstum getestet werden.
- Für den nächsten Schritt war die Verbesserung des anaeroben Wachstums vorgesehen. Hierfür sollten verschiedene Komplexmedien sowie Stoffwechselintermediate verwendet werden.
- In einem weiteren Teil der Arbeit sollte der Effekt eines Wechsels von anaeroben zu aeroben Bedingungen auf die globale Genexpression mit Hilfe der DNA-Microarray-Technologie untersucht werden. Dabei sollten mögliche Transkriptionsregulatoren, die an der Sauerstoff- und/oder Redoxdetektion sowie an der Anpassung des Metabolismus und der Atmung an anaerobe Bedingungen beteiligt sind, identifiziert werden.
- Überdies sollte geklärt werden, ob es möglich ist, mit vorhandenen *C. glutamicum* Aminosäureproduktionsstämmen unter anaeroben Bedingungen Aminosäuren zu produzieren.

4. Material und Methoden

4.1 Pufferlösungen und andere Stammlösungen

Alle Puffer und Stammlösungen wurden mit bidest. Wasser angesetzt.

50 x TAE-Puffer:	37,2 g/l $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 242 g/l Tris, mit Eisessig auf pH 8,5 einstellen
Glucose:	40% (w/v) (autoklaviert)
Trypton:	150 g/l (sterilfiltriert)
L-Cystein	0,6 g/10 ml (sterilfiltriert)
Kanamycin:	10 mg/ml (sterilfiltriert)
Lysozym:	20 mg/ml Lysozym (frisch angesetzt)
TG-Puffer:	1 mM Tris-HCl pH 7,5, 10% (v/v) Glycerin (autoklaviert)
IPTG:	0,5 mM (sterilfiltriert)
Kaliumphosphat:	1 M K_2HPO_4 ; 1 M KH_2PO_4

4.2 Nährmedien

Alle Nährmedien wurden mit bidest. Wasser angesetzt.

LB-Medium:	10 g/l Trypton (Difco), 5 g/l Hefeextrakt (Difco), 10 g/l NaCl (Merck) (autoklaviert)
BHI-Medium:	37 g/l BHI (Difco) (autoklaviert)
BHIS-Medium:	37 g/l BHI (Difco) und 182 g/l Sorbitol (Merck) (separat autoklaviert)
SOC-Medium:	20 g/l Trypton (Difco), 5 g/l Hefeextrakt (Difco), 0,6 g/l NaCl (Merck), 0,2 g/l KCl (Merck), nach dem Autoklavieren 1 g/l MgCl_2 (Merck) (sterilfiltriert) und 4 g/l Glucose (Merck) (separat autoklaviert) zugeben
CGXII-Medium:	20 g/l $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Merck), 5 g/l Harnstoff (Merck), 1 g/l KH_2PO_4 (Merck), 1 g/l K_2HPO_4 (Merck), 0,25 g/l $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Merck), 10 mg/l CaCl_2 (Merck), 42 g/l MOPS (Roth), pH 7,3 (mit KOH einstellen), nach dem Autoklavieren 0,2 mg/l Biotin (Merck) (sterilfiltriert), 1 ml/l

Protokatechusäure (30 g/l in verd. NaOH gelöst, sterilfiltriert), 1 ml/l Spurensalzlösung und Glucose-Monohydrat (Merck) (autoklaviert) zugeben

Spurensalzlösung: 10 g/l $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Merck), 10 g/l $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Merck), 1 g/l $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Merck), 0,2 g/l $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Merck), 20 mg/l $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Merck), zum Lösen mit HCl ansäuern (pH 1) und sterilfiltrieren

Für entsprechende Nährböden wurde den Medien 15 g/l Agar-Agar (Difco) zugesetzt. Wenn erforderlich wurde den Nährmedien Kanamycin zu einer Endkonzentration von 50 µg/ml (*E. coli*) oder 25 µg/ml (*C. glutamicum*) hinzugefügt.

4.3 Oligonukleotide und Plasmide

Tabelle 1: In dieser Arbeit verwendete Oligonukleotide. Alle Oligonukleotide wurden von Eurofins MWG Operon bezogen. Die Sequenzen sind in 5' → 3'- Richtung dargestellt. Eingeführte Restriktionsschnittstellen sind unterstrichen und die dazugehörigen Restriktionsendonukleasen nachfolgend genannt.

Name	Sequenz (5' → 3')	Schnittstelle
Primer zur Konstruktion von pAN6 <i>udhA</i>		
UdhA_for	AA <u>ACTG</u> CAGATGCCACATTC	PstI
UdhA-rev	AAAGGGACCAG <u>CTAG</u> CTTAAACAG	NheI
Primer für Standard-Sequenzierungen		
UdhA_f2	GATATGACCATGATTACGCC	
UdhA_r2	CGGCGTTTCACTTCTGAGTTCGGC	

Tabelle 2: In dieser Arbeit verwendete und konstruierte Plasmide.

Name	Eigenschaft	Referenz
pK19 <i>mobsacB</i>	Kan ^R , pK18 <i>oriV_{E.c.}</i> , <i>sacB lacZα</i> ; Vektor für allelischen Austausch in <i>C. glutamicum</i>	(Schäfer <i>et al.</i> , 1994)
pk19 <i>mobsacB</i> -ATPG-S273P	Kan ^R ; pK19 <i>mobsacB</i> -Derivat; beinhaltet ein 984 bp langes Smal-Fragment, das das Gen <i>atpG</i> -S273P und seine flankierenden Regionen beinhaltet	Karin Krumbach, FZ Jülich, unveröffentlicht
pAN6	Kan ^R ; pEKEx2-Derivat zur Überproduktion von Proteinen in <i>C. glutamicum</i>	(Frunzke <i>et al.</i> , 2008)
pAN6_ <i>udhA</i>	Kan ^R ; pAN6-Derivat; kodiert für das	Diese Arbeit

	<i>Escherichia coli</i> -Wildtyp <i>udhA</i> -Gen (Transhydrogenase)	
pEKEx2	Kan ^R ; P _{tacl} , <i>lacI</i> ^q , pBL1 <i>oriV</i> _{C.g.} , pUC18 <i>oriV</i> _{E.c.} <i>C. glutamicum</i> / <i>E. coli</i> Shuttle-Vektor für regulierte Genexpression	(Eikmanns <i>et al.</i> , 1991; Schäfer <i>et al.</i> , 1994)
pEKEx2_ <i>pntAB</i>	Kan ^R ; pEKEx2-Derivat; kodiert für die <i>Escherichia coli</i> -Wildtyp <i>pntAB</i> -Gene (Transhydrogenase)	(Kabus <i>et al.</i> , 2007a)
pEKEx2_pHluorin	Kan ^R ; pEKEx2-Derivat; kodiert für das ratiometrische pHluorin-Gen	Katja Kirsch, Universität zu Köln, unveröffentlicht

4.4 Bakterienstämme

Tabelle 3: In dieser Arbeit verwendete Bakterienstämme.

Stamm	Relevante Charakteristika	Herkunft/Referenz
<i>E. coli</i> DH5α	F ⁻ φ80 <i>dlacΔ</i> (<i>lacZ</i>)M15 Δ(<i>lacZYA-argF</i>) U169 <i>endA1 recA1 hsdR17</i> (r _K ⁻ , m _K ⁺) <i>deoR thi-1 phoA supE44 gyrA96 relA1</i> Stamm für Klonierungen und Plasmidpräparationen	Invitrogen (Karlsruhe, Deutschland)
<i>C. glutamicum</i> Stämme		
ATCC 13032	Biotin-auxotropher Wildtyp-Stamm	(Abe <i>et al.</i> , 1967)
ATCC 13032 Δ <i>alaT</i> Δ <i>avtA</i>	Wildtyp-Stamm mit Deletion der Gene <i>alaT</i> und <i>avtA</i>	(Marienhagen und Eggeling, 2008)
ATCC 13032 Δ <i>actA</i> Δ <i>pqo</i> Δ <i>pta-ackA</i>	Wildtyp-Stamm mit „in frame“-Deletionen der Gene <i>actA</i> , <i>pqo</i> , <i>pta-ackA</i>	Boris Litsanov (unveröffentlichte Arbeit)
ATCC 13032 ΔF ₁ F ₀	Wildtyp-Stamm mit „in-frame“-Deletion der Gene <i>atpBEFHAGDC</i>	(Koch-Körfges <i>et al.</i> , 2012)
ATCC 13032 pAN6_ <i>udhA</i>	Wildtyp-Stamm mit der Transhydrogenase UdhA aus <i>Escherichia coli</i>	Diese Arbeit
ATCC 13032 pEKEx2_ <i>pntAB</i>	Wildtyp-Stamm mit der Transhydrogenase PntAB aus <i>Escherichia coli</i>	Diese Arbeit
ATCC 13032 pEKEx2_pHluorin	Wildtyp-Stamm mit dem ratiometrischen pHluorin	Diese Arbeit
ATCC 13032 AtpG-S273P	Wildtyp-Stamm mit Basenaustausch (S273P) im Gen <i>atpG</i>	Karin Krumbach (unveröffentlichte Arbeit)
ATCC 13032 DM1945	Lysin-Produktionsstamm: Wildtyp-Stamm mit 2 x <i>lysCT311I</i> , <i>asd</i> , <i>dapA</i> , <i>dapB</i> , <i>ddh</i> , <i>lysA</i> , <i>lysE</i> ; <i>pycP458S</i> , <i>homV59A</i>	B. Bathe, Evonik Degussa

ATCC 13032 MV-Leu20	Leucin-Produktionsstamm: Wildtyp-Stamm mit „in-frame“- Deletion der Gene <i>ltbR</i> und <i>leuA</i> mit chromosomaler Integration von <i>leuA</i> unter der Kontrolle des <i>tuf</i> Promotors in den $\Delta leuA$ Lokus	(Vogt <i>et al.</i> , 2013)
ATCC 13032 MV-Leu33	Leucin-Produktionsstamm: Basierend auf MV-Leu20 mit <i>ilvNG20D</i> , <i>ilvNI21D</i> und <i>ilvNI22F</i>	(Vogt <i>et al.</i> , 2013)
ATCC 13032 $\Delta aceE$	Valin-Produktionsstamm: Wildtyp-Stamm mit Deletion des Gens <i>aceE</i> , das für das Enzym „E1“ des Pyruvat-Dehydrogenase-Komplexes kodiert	(Blombach <i>et al.</i> , 2007; Schreiner <i>et al.</i> , 2005)

4.5 Stammhaltung von Bakterienstämmen

Die Kultivierung von Bakterien zur Stammhaltung erfolgte in Reagenzgläsern mit 5 ml BHIS-Medium (*C. glutamicum*) bzw. 5 ml LB-Medium (*E. coli*), die 12-15 h mit 170 Upm bei 30 °C (*C. glutamicum*) bzw. bei 37 °C (*E. coli*) inkubiert wurden. Anschließend wurden die Zellen geerntet, in 1 ml BHIS-Medium resuspendiert und mit 1 ml sterilem Glycerin gemischt. Die Glycerinkulturen wurden bei -75 °C gelagert.

4.6 Kultivierung von *C. glutamicum*

4.6.1 Kultivierung unter aeroben Bedingungen in Schüttelkolben

Für die Kultivierung von *C. glutamicum* wurden zum Animpfen der Vorkulturen Einzelkolonien von Agarplatten verwendet, die nicht älter als 4 Tage waren. Die Vorkultivierung erfolgte zunächst für 8 h in 5 ml BHIS-Medium und anschließend für 16 h in 10 ml CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose. *C. glutamicum* wurde standardmäßig in 500 ml Erlenmeyerkolben mit zwei seitlichen Schikanen kultiviert, die 50 ml CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose enthielten und bei 30 °C und 120 Upm inkubiert wurden.

4.6.2 Kultivierung unter anaeroben Bedingungen auf Agarplatten

Zur anaeroben Kultivierung von *C. glutamicum* auf Agarplatten wurden diese in einen Anaerobiertopf gegeben. Bei dem katalysatorabhängigen System, das in dieser Arbeit verwendet wurde, wird zuerst durch Zugabe von Wasser zu Natriumborhydrid Wasserstoff freigesetzt. Der Wasserstoff wird durch Reaktion an der Oberfläche eines Palladiumkatalysators durch eine kalte Knallgasreaktion mit Sauerstoff zu H₂O umgesetzt (Oxoid Gas Generation Kit, Becton Dickenson). Durch die Bindung des Sauerstoffs wurden anaerobe Bedingungen hergestellt.

4.6.3 Kultivierung unter anaeroben Bedingungen in Serumflaschen

Zur anaeroben Kultivierung von *C. glutamicum* wurden die Zellen wie bei der aeroben Kultivierung in 5 ml BHIS-Medium für 8 h und anschließend in 10 ml CGXII-Minimalmedium mit 100 mM Glucose, Fructose, Saccharose, Ribose, Na-Gluconat, Na-Pyruvat, Na-L-Lactat, Na-Acetat, Na-Propionat oder 222 mM Glucose für 16 h unter aeroben Bedingungen bei 30 °C kultiviert. Die anaerobe Hauptkultivierung erfolgte in 50 ml CGXII-Minimalmedium mit 100 mM Glucose, Fructose, Saccharose, Ribose, Gluconat, Pyruvat, Lactat, Acetat, Propionat oder 222 mM Glucose in 60 ml Serumflaschen, die mit einem Butylgummistopfen luftdicht verschlossen wurden. Das Medium wurde vor der Inokulation für 30 min mit Stickstoff begast. Zur Reduktion des restlichen Sauerstoffs wurden nach dem Begasen 0,3 ml einer Cysteinlösung (60 g/l) zugegeben. Die Kultivierung erfolgte bei 30 °C und 50 Upm.

4.6.4 Kultivierung unter anaeroben Bedingungen im Bioreaktor

Die Vorkultivierung erfolgte wie unter Punkt 4.6.1 beschrieben, jedoch wurden die Zellen in 50 ml CGXII-Minimalmedium und 222 mM Glucose kultiviert. Zur Kultivierung im 1,4 l-Bioreaktor (Multifors Multi-Bioreaktor System, Infors, Einsbach, Deutschland) wurden vor der Inokulation 600 ml MOPS-freies CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose für 60 min mit Stickstoff (0,9 l/min) begast. Während der Kultivierung wurde das Medium mit einem Paddelrührer gemischt (200 Upm) und mit 0,3 l/min Stickstoff begast. Der pH-Wert wurde mit pH-Elektroden aufgezeichnet und mit 3 M HCl und 3 M KOH auf einem konstanten Wert von pH 5,5, 6,0, 6,5, 7,0, 7,5 oder 8,0 gehalten. Wenn nicht anders angegeben wurde bei einem pH-Wert von 7,5 kultiviert. Wenn angegeben wurde mit einem N₂/CO₂-Gemisch begast.

Das Überimpfexperiment wurde im Bioreaktor bei einem konstanten pH-Wert von 7,5 und einer Begasungsrate von 0,3 l/min 90% N₂ und 10% CO₂ in MOPS-freiem CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose und 15 g/l Trypton durchgeführt. Bei einer OD₆₀₀ von 5 wurden 60 ml Kultur mit einer Spritze entnommen und sofort einem weiteren Bioreaktor mit 540 ml frischem, sauerstofffreiem Medium zugeführt.

Wenn das Medium der Hauptkultur mit Hefeextrakt, BHI, nutrient broth, Trypton, Pepton, Casein, casamino acids oder Aminosäuren angereichert wurde, so wurde das Medium der Vorkultur auch angereichert.

4.7 Kultivierung von *E. coli*

Für die Kultivierung von *E. coli* wurde routinemäßig Luria-Bertani-Medium (LB-Medium) verwendet (Sambrook *et al.*, 1989b). Nur zur Regeneration der Zellen nach einer Transformation bzw. bei der Kultivierung zur Herstellung kompetenter Zellen wurde SOC-Komplexmedium (Sambrook *et al.*, 1989b) eingesetzt. Alle *E. coli*-Stämme wurden in Schüttelkolben, in Röhrchen bzw. auf Agarplatten bei 37 °C kultiviert. Die Kultivierungen zur Plasmidisolierung erfolgten im Allgemeinen in Reagenzgläsern mit 5 ml LB-Medium, die für 15-20 h mit 170 Upm geschüttelt wurden.

4.8 Bestimmung des Wachstums von Bakterien

Das Wachstum von Bakterien in Flüssigkultur wurde anhand der scheinbaren optischen Dichte (OD) bei einer Wellenlänge von 600 nm mit einem Ultrospec 500 *pro* Visible Spectrophotometer (Amersham Biosciences, Freiburg) (bei Kultivierung in Serumflaschen) oder mit einem Ultrospec 3100 *pro* (Amersham Biosciences, Freiburg) (bei Kultivierung im Bioreaktor) bestimmt. Eine lineare Abhängigkeit zwischen der Zelldichte und der scheinbaren optischen Dichte ist bis zu einer Extinktion von 0,1 bis 0,4 gegeben. Lag die gemessene Extinktion höher als 0,4, wurde die Probe mit Wasser verdünnt.

4.9 Bestimmung der Biotrockenmasse

Die Biotrockenmasse (BTM) wurde über die optische Dichte bei einer Wellenlänge von 600 nm bestimmt. Es wurde ein Korrelationsfaktor von 0,25 g BTM pro Liter bei einer OD₆₀₀ von 1 verwendet (Kabus *et al.*, 2007b).

4.10 Molekularbiologische Methoden

4.10.1 Isolierung von genomischer DNA

Zur Isolierung chromosomaler DNA aus *E. coli* wurden die Zellen von 1,5 ml einer Übernachtskultur durch 5 min Zentrifugation bei 16100 x *g* und RT vollständig sedimentiert, in 1 ml TES-Puffer (pH 8,0) gewaschen, erneut sedimentiert und in 800 µl TES-Puffer resuspendiert. Nach Zugabe von 10 µl 10% (w/v) SDS wurde der Ansatz für 30 min bei RT inkubiert. Anschließend wurden 300 µl Phenol (pH 7,5-8,0) zugegeben, kräftig geschüttelt, 10 min mit 16100 x *g* bei RT zentrifugiert und die obere wässrige Phase in ein neues Reaktionsgefäß überführt. Die Phenol-Extraktion wurde insgesamt 5 x durchgeführt. Im Anschluss wurden 700 µl der wässrigen Phase mit dem gleichen Volumen Isopropanol gemischt, 20 min bei -20 °C gelagert, 15 min mit 16100 x *g* bei RT zentrifugiert, die gefällte DNA mit 500 µl 70% Ethanol gewaschen, erneut zentrifugiert (10 min mit 16100 x *g* bei RT) und die DNA abschließend für 10 min bei 60 °C getrocknet. Zum Lösen der DNA wurden 100 µl EB-Puffer (Qiagen, 10 mM Tris-HCl, pH 8,5) zugefügt und der Ansatz für 10 min bei 70 °C inkubiert.

Zur Isolierung chromosomaler DNA aus *C. glutamicum* wurden Zellen einer 5-ml-Übernachtskultur vollständig sedimentiert, in 400 µl Lysispuffer (2,42 g/l Tris, 0,74 g/l Na₂EDTA, 1,2% (v/v) Triton X-100, pH 8,0) mit 20 mg/ml Lysozym (frisch zugesetzt) resuspendiert und 1 h unter Schütteln bei 37 °C inkubiert. Daraufhin wurden 80 µl 10% (w/v) SDS und 25 µl Proteinase K (20 mg/ml in TE-Puffer) zugegeben, kurz gevortext und 30 min bei 70 °C inkubiert. Nach Zugabe von 500 µl Phenol/Chloroform/Isoamylalkohol (Verhältnis 25:24:1; pH 7,5 - 8,0) und Vortexen wurden die Phasen durch 3 min Zentrifugation bei 14.000 Upm (Sigma Zentrifuge 2K15) getrennt, die obere wässrige Phase abgenommen, mit 1 ml eiskaltem abs. Ethanol versetzt, gevortext und 10 min mit 15.300 Upm bei 4 °C zentrifugiert (Sigma Zentrifuge 2K15). Die präzipitierte DNA wurde mit 70% Ethanol

gewaschen, erneut zentrifugiert, das Ethanol vollständig abgenommen, die DNA luftgetrocknet und in 250 µl bidest. H₂O gelöst.

4.10.2 Isolierung von Plasmid-DNA

Zur Isolierung von Plasmid-DNA aus *E. coli* wurde das QIAprep-Spin Miniprep-Kit (Qiagen, Hilden) nach den Angaben des Herstellers verwendet. Dieses Kit basiert auf der alkalischen Lyse von Zellen (Birnboim und Doly, 1979). Die Isolierung von Plasmid-DNA aus *C. glutamicum* erfolgte ebenfalls mit dem QIAprep-Spin Miniprep-Kit (Qiagen, Hilden). Aufgrund des im Vergleich zu *E. coli* dickeren Mureinsacculus wurden die *C. glutamicum*-Zellen zunächst 1-2 h mit 15 mg/ml Lysozym im Puffer P1 (Qiagen, Hilden) unter Schütteln bei 37 °C inkubiert (Schwarzer und Pühler, 1991).

4.10.3 DNA bzw. RNA-Konzentrationsbestimmung

Die Nukleinsäurekonzentration wurde durch die Messung der Extinktion bei 260 nm am Nanodrop (Spectrophotometer ND-1000 PeQLab Biotechnologie GmbH) bestimmt. Dabei wurde mit folgenden Umrechnungsfaktoren gearbeitet (Sambrook *et al.*, 1989a): $OD_{260} = 1$ entspricht einer Konzentration von 50 ng/µl doppelsträngiger DNA und 40 ng/µl einzelsträngiger DNA und RNA. Die Reinheit der DNA wurde anhand des Quotienten OD_{260}/OD_{280} bestimmt, der zwischen 1,8 und 2,0 liegen sollte. Bei starker Verunreinigung der DNA mit Proteinen liegt der Wert unter 1,8.

4.10.4 DNA-Agarose-Gelelektrophorese

Gelelektrophoretische Auftrennungen von DNA für analytische und präparative Zwecke erfolgten in horizontalen Elektrophoresekammern. Für die Gele wurde 1- oder 2%-ige (w/v) Agarose (GibcoBRL Ultra Pure Agarose) in 1 x TAE-Puffer verwendet, der gleichzeitig auch als Elektrophoresepuffer diente. Die Auftrennung erfolgte mit einer Spannung von 100 V. Die Anfärbung der DNA erfolgte durch mindestens zehn minütige Inkubation des Gels in wässriger GelRed™-Lösung (Biotinum, Inc., Hayward, USA). Durch Belichtung mit UV-Licht wurden die DNA-Banden sichtbar gemacht. Die Dokumentation der Gele erfolgte mit einem Image Master VDS System (Amersham Biosciences). Zur Größenbestimmung der DNA wurde der DNA-Längenstandard GeneRuler™ 1 kb von Fermentas verwendet.

4.10.5 Restriktionsverdau

Alle verwendeten Restriktionsendonukleasen stammen von der Firma New England Biolabs und wurden nach Angaben des Herstellers verwendet. Standardmäßig wurden die Restriktionen in 50 µl Ansätzen mit für die Restriktionsendonukleasen geeigneten NE-Puffern (NEB) durchgeführt. Die Restriktion wurde 2 h bei 37 °C inkubiert und wenn möglich anschließend hitzeinaktiviert. Die geschnittenen Gen-Produkte wurden anschließend wie beschrieben (Kapitel 4.9.8) von Restriktionsendonukleasen und Nukleotiden gereinigt.

4.10.6 Ligation

Zur Ligation von geschnittenen Plasmiden mit DNA-Fragmenten wurde das Rapid DNA Ligation-Kit (Roche Diagnostics) nach Angaben des Herstellers verwendet. Der Ligationsansatz wurde standardmäßig mindestens 20 min bei RT inkubiert.

4.10.7 Polymerasekettenreaktion

Die PCR (Mullis und Faloona, 1987) wurde sowohl für analytische (Kontrolle von Transformanden und Deletionsmutanten) als auch präparative Zwecke (*in-vitro*-Amplifizierung von DNA-Fragmenten) genutzt. Falls im Text nicht anders vermerkt wurde für präparative PCR-Ansätze das Expand High Fidelity Kit (Roche Diagnostics) verwendet, das neben *Taq*-DNA-Polymerase auch *Tgo*-DNA-Polymerase mit 3'-5'-Exonucleaseaktivität beinhaltet. Durch Kombination der beiden Polymerasen und die 3'-5'-Exonucleaseaktivität der *Tgo*-DNA-Polymerase wird die Fehlerrate der DNA-Synthese um den Faktor 3 reduziert. Für analytische PCR-Ansätze wurde *Taq*-DNA-Polymerase verwendet. Die für die PCR verwendeten Primer sind in Tabelle 1 dargestellt. Die Reaktionen wurden in einem Primus Thermocycler (MWG Biotech) durchgeführt. Die Reaktionsbedingungen für die PCR wurden bei Verwendung des Expand High Fidelity Kit entsprechend den Angaben des Herstellers wie folgt gewählt: Reaktionen in einem Gesamtvolumen von 50 µl enthielten 0,1 - 0,75 µg Matrizen-DNA, je 300 nM der beiden Primer, 2,6 U *Taq/Tgo*-DNA-Polymerase sowie je 200 µM dATP, dGTP, dCTP und dTTP. Nach einem Denaturierungsschritt für 5 min bei 95 °C wurden 30 Zyklen mit folgenden Parametern durchlaufen: 30 s Denaturierung bei 95 °C, 30 s „Annealing“ bei $T_m - 5^\circ\text{C}$ und x s Elongation bei 72 °C. Die Annealing-Temperatur wurde üblicherweise 5 °C unter der Schmelztemperatur T_m der Primer gewählt. Die Schmelztemperatur T_m der DNA kann mit der Formel $T_m [^\circ\text{C}] = [(G + C) \cdot 4] + [(A + T) \cdot 2]$

abgeschätzt werden. Als Elongationszeit wurde 1 min pro 1,5 kb des zu amplifizierenden Fragments verwendet. Zur Kontrolle von *C. glutamicum*-Transformanden wurden einzelne Kolonien mit einem sterilen Zahnstocher zunächst auf eine neue Agarplatte ausgestrichen und der am Zahnstocher verbliebene Rest der Zellen als Matrize direkt in die PCR-Ansätze gegeben. Zur Analyse wurden Aliquots der PCR-Ansätze mittels Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt. Zur Reinigung wurden die PCR-Fragmente aus dem Gel mit dem QIAEX II Gel Extraction-Kit (Qiagen) eluiert und gereinigt oder alternativ mit dem QIAquick PCR Purification-Kit (Qiagen) gereinigt, wenn die Gelelektrophorese keine Nebenprodukte erkennen ließ.

4.10.8 PCR-Purification-Kit

Zur Reinigung von PCR-Produkten bzw. restringierten PCR-Produkten von Nukleotiden, Oligonukleotiden und Restriktionsenzymen wurde das QIAquick PCR-Purification-Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers verwendet. Die gereinigte DNA wurde mit 50 µl bidest. H₂O von der Säule eluiert.

4.10.9 DNA-Sequenzanalyse

Die DNA-Sequenzierungen wurden von Eurofins MWG Operon (Ebersberg) oder AGOWA (Berlin) durchgeführt. Vergleiche der in dieser Arbeit ermittelten DNA-Sequenzen mit DNA-Sequenzen aus Datenbanken wurden mit Hilfe des Programmes „Blast-Blast 2 Sequences“ (www.ncbi.nlm.nih.gov) durchgeführt. Die weitere Bearbeitung der erhaltenen Sequenzen erfolgte mit dem Programm „Clone Manager 7“ für Windows XP (Version 7.03, Scientific & Educational Software, Cary NC, USA).

4.10.10 Herstellung und Transformation kompetenter *E. coli*-Zellen

Durch eine RbCl₂-Behandlung erhielten logarithmisch wachsende *E. coli*-Zellen die Kompetenz, freie DNA aus dem Medium aufzunehmen. Die Präparation der kompetenten Zellen erfolgte nach Hanahan (Hanahan, 1983; Hanahan, 1985). Einige 2 – 3 mm große Kolonien wurden von einer frischen LB-Platte in 1 ml SOC-Medium resuspendiert. Damit wurden 50 ml SOC-Medium inokuliert und bis zu einer OD₆₀₀ von ~0,5 bei 37 °C und 160 Upm inkubiert. Danach wurden die Zellen in 50-ml-Falcontubes überführt und 15 min auf Eis inkubiert. Auch alle weiteren Schritte erfolgten auf Eis. Die Zellen wurden 15 min bei

16.000 g und 4 °C geerntet, in 1/3 Kulturvolumen eiskalter RF1-Lösung resuspendiert und 15 min auf Eis inkubiert. Nach erneutem Zentrifugieren wurden die Zellen in 1/12,5 Kulturvolumen eiskalter RF2-Lösung resuspendiert, nochmals 15 min auf Eis inkubiert und dann in 50- bzw. 100-µl-Aliquots in vorgekühlte Eppendorf-Reaktionsgefäße verteilt, die sofort in flüssigem Stickstoff schockgefroren wurden. Die Zellen wurden bis zur Verwendung bei -75 °C gelagert.

<i>RF1-Lösung</i>	RbCl ₂	100 mM
	MnCl ₂ · 4H ₂ O	50 mM
	K-Acetat	30 mM
	CaCl ₂ · 2H ₂ O	10 mM
	Glycerin	15%
	mit 0,2 M Essigsäure auf pH 5,8 einstellen	

<i>RF2-Lösung</i>	Morpholinopropansulfonsäure	10 mM
	RbCl ₂	10 mM
	CaCl ₂ · 2H ₂ O	75 mM
	Glycerin	15%
	mit 6 M NaOH auf pH 6,8 einstellen	

Zur Transformation chemisch kompetenter *E. coli*-Zellen wurden 50 µl der Zellen mit bis zu 10 µl Ligationsansatz für 45 min auf Eis inkubiert. Nach einem Hitzeschock für 90 s bei 42 °C wurden 440 µl SOC-Medium (auf 37 °C erwärmt) zugegeben und der Ansatz für weitere 45 min unter leichtem Schütteln bei 37 °C inkubiert. Entsprechend dem Resistenzgen des transferierten Plasmids wurden 20 µl und 100 µl des Ansatzes auf LB-Platten mit 50 µg/ml Kanamycin ausplattiert.

4.10.11 Herstellung und Transformation kompetenter *C. glutamicum*-Zellen

Die Herstellung und Transformation von kompetenten *C. glutamicum*-Zellen erfolgte nach der Methode von van der Rest (van der Rest *et al.*, 1999). Aus einer Übernacht-Vorkultur in LB-Medium mit 2% (w/v) Glucose wurde die Hauptkultur in 200 ml EPO-Medium (2 g Trypton, 2 g NaCl, 1 g Hefeextrakt, in 160 ml H₂O lösen und autoklavieren, 800 mg Isonicotinsäure-Hydrazid, 5 g Glycin und 0,2 ml Tween 80 in 40 ml H₂O lösen, sterilfiltrieren und zum Medium hinzugeben) auf OD₆₀₀ = 0,3 angeimpft. Die Kultivierung erfolgte bei 18 °C für 28 h. Die Kulturen wurden 30 min auf Eis inkubiert, die Zellen anschließend dreimal mit eiskaltem 10%-igem (v/v) Glycerin gewaschen und dann in 2 ml 10%-igem (v/v) Glycerin resuspendiert. 100 µl Aliquots wurden bei -75 °C gelagert.

Die Transformation der kompetenten *C. glutamicum*-Zellen wurde mittels Elektroporation durchgeführt. Dazu wurden 100 µl kompetente Zellen mit etwa 1 µg Plasmid in einer eisgekühlten Elektroporationsküvette gemischt. Die Elektroporation (Gene Pulser, BioRad, München) erfolgte mit einer Kapazität von 25 µF, einem Widerstand von 600 Ω und einer Spannung von 2,5 kV. Im Anschluss an die Elektroporation wurden die Zellen in 800 µl BHIS-Medium (auf 46 °C vorgewärmt) suspendiert, einem Hitzeschock unterzogen (6 min bei 46 °C) und abschließend 1 h bei 30 °C inkubiert. 20 µl und 100 µl des Ansatzes sowie der Rest wurden auf BHIS-Platten mit 25 µg/ml Kanamycin ausplattiert.

4.11 Proteinbiochemische Methoden

4.11.1 Proteinbestimmung nach Bradford

Proteinkonzentrationen wurden mittels Bradford-Methode (Bradford, 1976) bestimmt. Dazu wurden 50 µl Probe mit 1 ml Bradford-Reagenz (Coo Protein Assay, Uptima, Frankreich) versetzt, für 10 min bei RT inkubiert und die Extinktion bei 595 nm gemessen. Als Standard wurde eine Messreihe von 0 µg/ml bis 500 µg/ml Rinder-Serumalbumin (BSA) im jeweiligen Proteinpuffer verwendet. Es wurden jeweils zwei Replikate pro Probe gemessen.

4.11.2 Präparation von Zellmembranen

C. glutamicum wurde in 250 ml CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose in einem 1 l Schikanenkolben bei 30 °C und 120 Upm kultiviert. Bei einer OD₆₀₀ von ca. 5 wurden die Zellen durch Zentrifugation (10.000 g, 20 °C, 10 min) geerntet und zwei Mal mit einer 0,7%igen NaCl-Lösung gewaschen. Alle weiteren Arbeiten wurden bei 4 °C durchgeführt. Das Pellet wurde in 14 ml eines 50 mM Kalium-Phosphat-Extraktionspuffers (pH 8,0) resuspendiert, der 1 mM Dithioerythritol und 0,1 mM Diisopropylfluorophosphat enthielt. Nach Zugabe von etwas Deoxyribonuclease wurde die Zellsuspension drei Mal mit 172 MPa durch eine French-Press-Zelle (SLM Aminco) aufgeschlossen. Nicht aufgeschlossene Zellen und Zelltrümmer wurden durch 25 min Zentrifugation bei 5.500 g sedimentiert. Der Überstand wurde mit Extraktionspuffer auf ein Endvolumen von 20 ml gebracht und für 30 min bei 145.000 g ultrazentrifugiert. Das Membranpellet wurde in 20 ml Extraktionspuffer in einem Glashomogenisator suspendiert und erneut 30 min bei 145.000 g zentrifugiert. Die Membranen wurden in 2 ml Puffer homogenisiert und auf Eis gelagert.

4.11.3 F₁F₀-ATP-Synthase-Aktivitätsmessung

Die Enzymaktivität der F₁F₀-ATP-Synthase wurde durch einen gekoppelten Spektrophotometerassay mit Pyruvat-Kinase und Lactat-Dehydrogenase (gewonnen aus Hasenmuskulatur, Roche) nach der von Laubinger und Dimroth (Laubinger und Dimroth, 1987) beschriebenen Methode gemessen. Hierbei enthielt die UV-Küvette 1 ml Reaktionslösung (50 mM Kaliumphosphatpuffer, pH 7,0, 5 mM MgCl₂, 5 mM NaCl, 0,25 mM NADH, 3 mM Phosphoenolpyruvat, 15 U Lactat-Dehydrogenase 10 U Pyruvat-Kinase, 1% (v/v) Triton X-100 und 10 µl der resuspendierten Zellmembranen, 25 °C). Die Reaktion wurde mit 2,5 mM ATP gestartet und die Oxidation von NADH wurde bei 340 nm aufgezeichnet. Kontrollen wurden in der beschriebenen Reaktionslösung durchgeführt, wobei (i) 5 bzw. 20 µl resuspendierte Zellmembranen und (ii) 10 µl Extraktionspuffer ohne Membranen verwendet wurde. Die spezifische Aktivität berechnet sich wie folgt:

$$\text{Spezifische Aktivität [U/mg]} = \Delta\text{Abs/min} * V_R / (\epsilon * d * V_Z * m)$$

ΔAbs/min:	Extinktionszunahme pro min
V _R :	Reaktionsvolumen
ε:	Extinktionskoeffizient von NADH (6,3 * 100 l/mol/mm)
d:	Schichtdicke der Küvette
V _Z :	Volumen der resuspendierten Zellmembran
m:	Proteinmenge (mg)

4.12 Genexpressionsanalysen mittels DNA-Microarrays

4.12.1 Isolierung von RNA

Gesamt-RNA aus *C. glutamicum* wurde mit dem RNeasy Mini-Kit (Qiagen) isoliert. Die Methode beruht auf einer Lyse der Bakterien in Gegenwart von Guanidinisothiocyanat und Dithiothreitol (DTT), die zu einer sofortigen Inaktivierung der RNasen führt und somit die Isolierung intakter RNA gewährleistet. Anschließend wird die RNA in Gegenwart von Ethanol und einer speziellen, hochkonzentrierten Salz-Puffer-Lösung (RNeasy, Qiagen) an eine Silica-Gel-Membran adsorbiert, die selektiv einzelsträngige RNA-Moleküle ab einer Größe von 200 Basen bindet.

Ca. 20 ml einer *C. glutamicum*-Kultur (OD_{600} zwischen 5 und 6) wurden in $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ vorgekühlte, mit 10 g Eis beladene 50-ml Falcon-Gefäße gefüllt und abzentrifugiert (3 min, 5.500 *g*, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$). Die sedimentierten Zellen wurden sofort in flüssigem Stickstoff schockgefroren und bei $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert. Die Zellpellets wurden auf Eis aufgetaut und in 350 μl eiskaltem RLT-Puffer (RNeasy, Qiagen) mit 10% (v/v) Dithiothreitol resuspendiert und in Gegenwart von 250 mg Zirkonium/Silica-Perlen (\varnothing 0,1 mm, ROTH) 4 mal 20 s mit zwischenzeitlicher Kühlung auf Eis in einem Amalgamator (Silamat, Vivadent) mechanisch aufgeschlossen. Ab hier fanden alle Schritte bei RT statt. Nach Abtrennen von Zelltrümmern und intakten Zellen durch Zentrifugation (2 min, 16.100 *g*) wurde der Überstand mit 250 μl Ethanol abs. (eiskalt) vermischt, auf die RNeasy-Säulchen aufgetragen und 15 s bei 11.200 *g* zentrifugiert. Die Membran wurde mit 500 μl RW1-Puffer (RNeasy-Kit, Qiagen) gewaschen (15 s, 11200 *g*) und anschließend wurde ein Mix aus 10 μl DNase I (RNase-free DNase-Set, Qiagen) und 70 μl RDD-Puffer (RNase-free DNase-Set, Qiagen) auf die Säulchenmembran gegeben und 15 min bei RT inkubiert. Nach einem weiteren Waschschritt mit 500 μl RW1-Puffer wurde die Säule in ein frisches Sammelgefäß überführt und mit 500 μl RPE Puffer (RNeasy-Kit, Qiagen) gewaschen. Die Säulchen wurden 30 s bei 11.200 *g* zentrifugiert. Nach einer weiteren Zentrifugation (30 s, 16.100 *g*) zur Entfernung von Ethanol-Resten wurde die RNA zwei Mal mit je 30 μl Nuklease-freiem H_2O eluiert (1 min, 11.200 *g*). Die RNA-Konzentration wurde photometrisch bestimmt (vgl. Kapitel 4.9.3). Die Lagerung der isolierten RNA erfolgte bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

4.12.2 Synthese fluoreszenzmarkierter cDNA-Sonden

Für den Vergleich genomweiter Genexpressionsmuster wurden fluoreszenzmarkierte cDNA-Sonden ausgehend von gleichen Mengen ($\sim 24\text{ }\mu\text{g}$) der zu vergleichenden RNA-Proben synthetisiert (Wendisch *et al.*, 2001). Als Fluoreszenzfarbstoffe wurden die dUTP-Analoga Cy3-dUTP ($\lambda_{\text{Absorption max}}$ 550 nm, $\lambda_{\text{Fluoreszenz max}}$ 570 nm, grün, Amersham Biosciences) und Cy5-dUTP ($\lambda_{\text{Absorption max}}$ 649 nm, $\lambda_{\text{Fluoreszenz max}}$ 670 nm, rot, Amersham Biosciences) verwendet. Die RNA ($\sim 24\text{ }\mu\text{g}$ Gesamt-RNA in 14 μl H_2O gelöst) wurde mit 1 μl einer 500 ng/ μl Zufallshexanukleotid-Primer-Lösung (in bidest. H_2O gelöst, Amersham Biosciences) inkubiert ($65\text{ }^{\circ}\text{C}$, 10 min) und anschließend 2 min auf Eis abgekühlt. Die reverse Transkription wurde in einem Puffer durchgeführt, der 0,1 mM Cy3-dUTP oder Cy5-dUTP, 50 mM Tris-HCl, pH 8,3, 75 mM KCl, 3 mM MgCl_2 , 10 mM DTT, 0,5 mM dATP, 0,5 mM dGTP, 0,5 mM dCTP, 0,2 mM dTTP und 400 U Superscript-II Reverse Transcriptase (Invitrogen) enthielt (Wendisch *et al.*,

2001). Der 30- μ l-Ansatz wurde 10 min bei RT und anschließend 110 min bei 42 °C inkubiert. Nach der reversen Transkription wurde die RNA durch Zusatz von 10 μ l NaOH (0,1 N) 10 min bei 70 °C hydrolysiert. Die Lösung wurde mit 10 μ l HCl (0,1 N) neutralisiert. Die Abtrennung nicht eingebauter Nukleotide erfolgte durch Ultrazentrifugationseinheiten (Microcon YM-30, Millipore). Der 50- μ l-Ansatz wurde mit Wasser auf 500 μ l aufgefüllt und durch Zentrifugation (4 min, 8.000 g) auf etwa 20 μ l eingengt. Dieser Waschschrift wurde wiederholt. Danach wurden die für eine Hybridisierung vorgesehenen Cy3- bzw. Cy5-markierten Sonden vereinigt und es erfolgten, wie oben beschrieben, eine weitere Ultrafiltrationszentrifugation (4 min, 8.000 g). Die so erhaltene cDNA-Sonde (44 μ l) wurde sofort für die DNA-Chip-Hybridisierungen eingesetzt.

4.12.3 DNA-Chip-Hybridisierung

Auf den in diesen Experimenten verwendeten DNA-Chips waren 3057 Oligonukleotide gespottet, die offene Leseraster (ORFs) im *C. glutamicum*-Genom repräsentieren. Grundlage dieser Oligonukleotide ist die Genomsequenz NC_006958 von NCBI. Zusätzlich zu den ORF-Sonden wurden Hybridisierungskontrollen (Lambda-DNA, PCR-Produkt eines Gens aus *E. coli*, welches kein Homolog in *C. glutamicum* besitzt und genomische DNA aus *E. coli*) sowie genomische DNA von *C. glutamicum* an verschiedenen Stellen auf dem Chip angeordnet. Alle in dieser Arbeit verwendeten Chips wurden von Agilent Technologies (Waldbronn, Deutschland) bezogen.

Zur Bestimmung relativer mRNA-Spiegel wurden die aus den beiden zu vergleichenden RNA-Proben erhaltenen Cy3- und Cy5-fluoreszenzmarkierten cDNA-Sonden gleichzeitig auf einem DNA-Chip hybridisiert. Zu den vereinigten und aufgereinigten Cy3-bzw. Cy5-markierten cDNA-Sonden (44 μ l) wurden 11 μ l 10X Blocking Agent hinzugefügt und mit 55 μ l 2X Hybridization Buffer HI-RPM (Agilent-Hyb-Kit) gemischt. Dieser Ansatz wurde 1 min bei 13.000 g zentrifugiert und 100 μ l wurden unverzüglich auf das Gasket-Slide geladen. Das Slide wurde in die Agilent Hybridisierungskammer gelegt und vorsichtig mit dem Agilent-Array bedeckt. Die Kammer wurde festgezogen, wobei mindestens eine frei bewegliche Luftblase in der Kammer zu erkennen sein sollte. Die Kammer mit dem DNA-Microarray wurde im vorgeheizten Hybridisierungssofen bei 65 °C über Nacht unter Rotation inkubiert. Um die Probenlösung und unspezifisch gebundene fluoreszenzmarkierte cDNA nach der Hybridisierung zu entfernen, erfolgte ein stringentes Waschen des DNA-Arrays für je 1 min in

Waschpuffer 1 und 2 (Agilent Gene Expression Wash Buffer 1/2, Agilent Technologies). Durch langsames Herausziehen des Arrays aus Waschpuffer 2 ist eine tropfenfreie Oberfläche zu erreichen. Anschließend wurde die Fluoreszenz auf der DNA-Array-Oberfläche bestimmt.

4.12.4 Bestimmung der Fluoreszenz von DNA-Chips

Um die relativen mRNA-Spiegel der zu vergleichenden Proben zu bestimmen, wurde die Cy3- und die Cy5-Fluoreszenz der Spots gemessen. Da das Verhältnis von Cy3- und Cy5-Fluoreszenz eines Spots unter geeigneten Bedingungen direkt mit dem Verhältnis der Anzahl der mRNA-Moleküle in den verglichenen RNA-Proben korreliert, ist es ein Maß für den relativen mRNA-Spiegel (Shalon *et al.*, 1996). Zum Messen der orts aufgelösten Fluoreszenz auf den DNA-Chips wurde der GenePix 4000 A Laser Scanner (Axon Inc.) verwendet. Die DNA-Chip-Oberfläche (10 x 10 µm Raster) wurde zum Anregen der fluoreszierenden Molekülgruppen mit monochromatischem Licht zweier verschiedener Wellenlängen bestrahlt, eine zur Anregung von Cy3-dUTP (532 nm) und die andere für Cy5-dUTP (635 nm), und die daraufhin emittierte Fluoreszenz wurde mit lichtempfindlichen Kathoden bei 570 nm (Cy3-Fluoreszenz) und bei 670 nm (Cy5-Fluoreszenz) registriert. Diese wandeln die Cy3- und Cy5-Fluoreszenz in elektrischen Strom um, der weiter verstärkt wird. Die gemessene Stromstärke korreliert direkt mit der Cy3- bzw. Cy5-Fluoreszenz. Mit Hilfe der Software wurde die orts aufgelöste Information für die Cy3- und Cy5-Fluoreszenz anhand der numerischen Werte als Fluorogramm bildlich dargestellt und im 16-bit-TIFF-Format elektronisch gespeichert (GenePix Pro 6.0 Software). Hierdurch wurden die Roh-Fluoreszenz-Daten erhalten. Die 'GenePix Array List' (erstellt von Dr. T. Polen) erlaubte eine Zuordnung jedes einzelnen detektierten DNA-Spots zu dem entsprechenden *C. glutamicum*-Gen bzw. zu den entsprechenden Hybridisierungskontrollen.

4.12.5 Auswertung der DNA-Microarray-Experimente

Die Berechnung des Verhältnisses von Signal zu Rauschen für Cy3- und Cy5-Fluoreszenzsignale erfolgte durch Bildung des Quotienten $\text{Signalintensität}_{\text{spot}} / \text{Signalintensität}_{\text{spotintergrund}}$. Wenn das Signal/Rausch-Verhältnis sowohl für die Cy3- als auch für die Cy5-Fluoreszenz kleiner als drei war, wurden die Signale als zu schwach angenommen, um zuverlässig ausgewertet werden zu können, und in weiteren Analysen

nicht berücksichtigt (Khodursky *et al.*, 2000). Um die durch die Cy5-/Cy3-Fluoreszenz-Verhältnisse repräsentierten relativen mRNA-Spiegel verschiedener DNA-Chip-Experimente besser miteinander vergleichen zu können, wurden die numerischen Werte normalisiert (Eisen *et al.*, 1998). Die Normalisierung erfolgte für jeden DNA-Chip anhand des Cy3-/Cy5-Fluoreszenz-Verhältnisses von chromosomaler *C. glutamicum*-DNA. Dazu wurde aus den Cy5-/Cy3-Fluoreszenz-Verhältnissen aller auswertbaren Spots mit genomischer DNA der Mittelwert bestimmt. Der Kehrwert dieses Mittelwerts diente als Korrekturfaktor zur Normalisierung. Bei Multiplikation des Korrekturfaktors mit dem experimentell bestimmten Mittelwert für das Fluoreszenz-Verhältnis von chromosomaler DNA ergibt sich das theoretisch erwartete Verhältnis von 1 (Eisen *et al.*, 1998). Die Verhältnisse aller genspezifischen Spots wurden dann mit diesem Korrekturfaktor multipliziert (Khodursky *et al.*, 2000). Beruhend auf einem von W. S. Gosset (1876-1937) entwickelten statistischen Verfahren zur Berechnung von Wahrscheinlichkeiten bezüglich Übereinstimmung oder Verschiedenheit zweier Datensätze, erfolgte für Gene, deren relativer mRNA-Spiegel mehrfach bestimmt wurde, die Berechnung von *p*-Werten mit dem t-Test (TTEST-Tabellenfunktion, EXCEL 2000, Microsoft). Dabei wurde die Streuung der mehrfach gemessenen und normalisierten Cy3-/Cy5-Fluoreszenzverhältnisse eines Gens mit der Streuung der normalisierten Cy3-/Cy5-Fluoreszenzverhältnisse genomischer DNA verglichen (Khodursky *et al.*, 2000). Veränderte relative mRNA-Spiegel von Genen mit *p*-Werten >0,05 wurden als statistisch nicht signifikant verändert betrachtet.

4.13 HPLC-Methoden

4.13.1 Bestimmung von extrazellulärer Glucose und organischen Säuren mittels HPLC

Die Identifizierung und quantitative Bestimmung von Glucose und organischen Säuren in Kulturüberständen erfolgte durch Ionen-Ausschlusschromatographie an einer „Organic Acid Resin“-Kationenaustauschersäule (300 x 8 mm; CS Chromatographie Service GmbH, Langerwehe) durch isokratische Elution innerhalb von 43 min mit 100 mM H₂SO₄ bei einer Flussrate von 0,4 ml/min und einer Temperatur von 40 °C mit Hilfe eines Agilent Technologies 1100 HPLC Systems (Agilent Technologies, Waldbronn). Die eluierte Glucose wurde mit einem Refraction Index (RI)-Detektor (Agilent 1200 HPLC Systems) detektiert, die

organischen Säuren wurden mit einem Diodenarray-Detektor (DAD G1315B) bei einer Wellenlänge von 215 nm detektiert. Die Quantifizierung der Glucose sowie der organischen Säuren erfolgte durch Vergleich der Peakflächen mit zuvor erstellten Kalibriergeraden aus externen Standards der entsprechenden Säuren und Zucker in wässriger Lösung.

4.13.2 Bestimmung von Aminosäuren mittels HPLC

Die Identifizierung und quantitative Bestimmung von Aminosäuren in Kulturüberständen erfolgte unter Verwendung eines Agilent Technologies 1100 LC Systems (Agilent Technologies, Waldbronn) mit einer ODS Hypersil-Trennsäule (120 x 4 mm; CS Chromatographie Service GmbH, Langerwehe) mit 5 µm Partikelgröße und einer 40 x 4 mm Vorsäule. Die Aminosäure-Bestimmung erfolgte mittels *reversed phase*-HPLC nach Derivatisierung der Probe mit *o*-Phthaldialdehyd (OPA) nach Lindroth & Mopper (Lindroth und Mopper, 1979). Diese erfolgte durch eine automatisierte Derivatisierung, bei der 1 µl der zu analysierenden Probe mit 20 µl OPA/2-Mercaptoethanol-Fertigreagenz (Pierce Europe BV, Oud-Beijerland, Niederlande) gemischt und 1 min bei RT im Probenraum inkubiert wurde. Die Derivatisierung beruht auf der Reaktion der primären Aminogruppe mit OPA und 2-Mercaptoethanol in alkalischem Medium, wobei ein 1-Mercaptoethanol-2-alkylisoindol entsteht, das fluoresziert (Jones und Gilligan, 1983). Die Substanzen wurden entsprechend ihrer Hydrophobizität mit einer Flussrate von 0,35 ml/min innerhalb der ersten Minute und von 0,6 ml/min innerhalb der folgenden 30 min bei 40 °C mit einem Gradienten aus 0,1 M Natriumacetat (pH 7,2) als polarer Phase und Methanol als unpolarer Phase eluiert. Die Fluoreszenz der Aminosäure-Isoindol-Derivate wurde nach Excitation bei einer Wellenlänge von 230 nm bei einer Emissionswellenlänge von 450 nm detektiert. Die Identifizierung von Aminosäuren erfolgte anhand ihrer Retentionszeit. Die Aminosäurekonzentration in der analysierten Probe wurde mithilfe von Kalibriergeraden aus externen Standards berechnet.

4.14 Intrazelluläre pH-Bestimmung

Die in dieser Arbeit verwendete Methode zur Bestimmung der intrazellulären pH-Werte bei sich verändernden extrazellulären pH-Werten basiert auf dem *green fluorescent protein* (GFP) aus *Aequorea victoria*, das 1962 von Shimomura *et al.* entdeckt worden ist (Shimomura *et al.*, 1962). GFP ist ein fluoreszierendes Protein, das einen häufig benutzten

Marker für Genexpression sowie für die Lokalisation von Proteinen darstellt. GFP weist eine 11-strängige β -Faltblatt-Fasstruktur auf, in dessen Mitte eine α -Helix vorhanden ist, an der sich an den Positionen 65-67 das sich autokatalysiert bildende Chromophor befindet (Perez-Jimenez *et al.*, 2006). Das Excitationsspektrum des GFPs ist bimodular, die zwei Excitationsmaxima liegen bei 395 nm und 475 nm. Diese zwei Maxima resultieren aus einem protonierten (Excitationsmaxima liegt bei 395 nm) bzw. deprotonierten (Excitationsmaxima liegt bei 475 nm) Status des Tyrosins an Position 66 des Proteins. Das Excitationsspektrum des GFP bleibt bei pH-Werten zwischen 5,5 und 10 nahezu unverändert (Miesenböck *et al.*, 1998). Eine pH-sensitive Variante des GFP ist das ratiomerische pHluorin. Es besitzt 8 Mutationen (E132D, S147E, N149L, N164I, K166Q, I167V R168H, S202H und L220F) und zeigt ebenfalls zwei Excitationsmaxima bei den Wellenlängen 396 nm und 475 nm. Bei unterschiedlichen pH-Werten verhalten sich die beiden Peaks gegenläufig. Bei steigendem pH-Wert steigt auch der Peak bei 396 nm an und der Peak bei 475 nm fällt ab, bei sinkendem pH-Wert *vice versa* (Miesenböck *et al.*, 1998). Die Wellenlängen der Excitationsmaxima können je nach Zur Bestimmung des intrazellulären pH-Werts wird das pHluorin-Gen typischerweise plasmidcodiert in die Zelle gebracht. Das pHluorin ist nicht toxisch, hat eine Molekülmasse von 31 kDa und ist in der Zelle über lange Zeit stabil (Ormö *et al.*, 1996). Dadurch können mit dem fluoreszierenden Protein pHluorin online-Messungen unter physiologischen Bedingungen durchgeführt werden.

Die Methode zur intrazellulären pH-Bestimmung in *C. glutamicum* wurde in der Arbeitsgruppe von Prof. Krämer, Universität Köln etabliert. Simon Mayr bestimmte im Rahmen einer Bachelorarbeit die physikalischen Eigenschaften von pHluorin in *C. glutamicum*. Dabei hat er die lineare Abhängigkeit des Emmissionsverhältnisses (396 nm/468 nm) zu den pH-Werten gemessen und stellte dabei fest, dass eine lineare Abhängigkeit im Bereich von pH 6,1 bis 8,5 gegeben ist.

Die intrazelluläre pH-Bestimmung wurden im Labor von Prof. Krämer, Universität Köln unter Anleitung von Katja Kirsch durchgeführt. Für die Messungen im Fluorimeter (Aminco Bowman® Series2 Luminescence Spectrometer, Thermo Electron Corporation) wurden zunächst 10 ml BHI-Medium + 2% (w/v) Glucose + 0,1 mM IPTG mit *C. glutamicum* pEKEx2_pHluorin angeimpft und über Nacht inkubiert. Diese Zellen wurden geerntet, mit 0,7%iger NaCl-Lösung gewaschen und in 50 ml MOPS-freies CGXII-Minimalmedium +

222 mM Glucose mit oder ohne 15 g/l Trypton + 0,2 mM IPTG in 500 ml Erlenmeyerkolben mit Schikanen überführt. Die Kultur wurde bis zu einer OD_{600} von mindestens 8 inkubiert und dann in das Reaktionsgefäß überführt. Das Reaktionsgefäß war eine doppelwandige Schottflasche, die Kultur wurde über eine Wasserversorgung (Haake Technik GMBH; K20/C1) auf 30 °C gehalten (Abbildung 4). Die Schottflasche enthielt einen Magnet und war auf einem Magnetrührer platziert (VARIOMAG®Electronicrührer Multipoint hp 15), der mit einer Geschwindigkeit von 300 Upm eine ausreichende Durchmischung der Messkultur sicherstellte. In der Schottflasche befand sich des Weiteren ein pH-Meter (Seven Easy FE20 Mettler Toledo, Schwarzenbach, Schweiz). Durch den Deckel der Schottflasche wurde über einen Schlauch, der an einer Pumpe angeschlossen war, entweder Luft oder Stickstoff geleitet. Eine weitere Pumpe beförderte über Schläuche kontinuierlich Zellkultur, mit einer Pumpgeschwindigkeit von 14 ml/min, in eine Messküvette im Fluorimeter, die Zellkultur wurde anschließend wieder zurück in die Schottflasche gepumpt. Die Küvette bestand dabei aus einer normalen Plastikkuvette, in der sich ein mit dem Rest der Probenschleife verbundenes, gewundenes Glasröhrchen befand. Die Zellen in der Schottflasche wurden 10 min bei pH 7,5 unter aeroben oder anaeroben Bedingungen konditioniert, danach wurden sie einem Shift zu dem gewünschten extrazellulären pH-Wert ausgesetzt. Dieser wurde von Hand durch schnelle Zugabe von einer 1 M KH_2PO_4 - oder einer 1 M K_2HPO_4 -Lösung eingestellt. Während der Kultivierung erfolgte die pH-Regulierung des Mediums über zwei vom Computer gesteuerte Pumpen, die je nach Bedarf eine 1 M KH_2PO_4 - oder eine 1 M K_2HPO_4 -Lösung in das Medium pumpen. Die Excitationsspektren des pHluorins in den Zellen wurde zwischen 350 nm und 480 nm mit einer Messrate von 8 nm/s gemessen, während die Kultur durch das Glasröhrchen der Küvette floss. Ein mit dem Fluorimeter verbundener Computer zeichnete die gemessenen Werte mit einem Programm (ab2, Thermo Electron Corporation) auf.

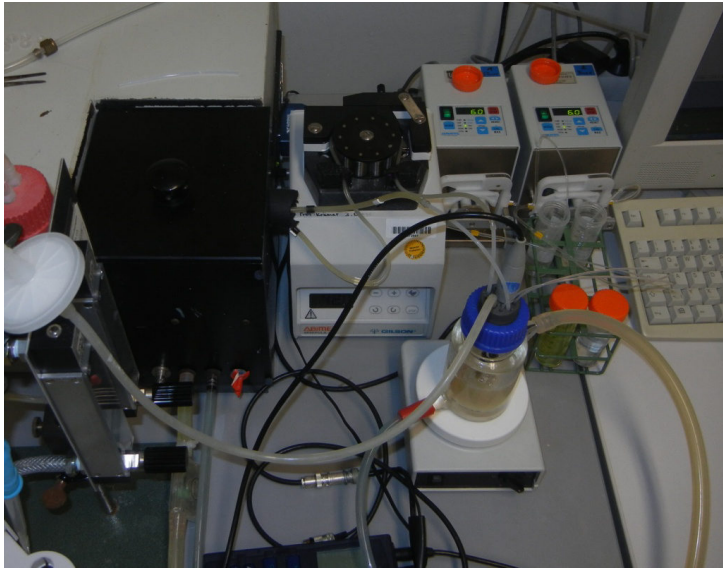


Abbildung 4: Versuchsaufbau zur Messung des intrazellulären pH-Werts in *C. glutamicum* pEKEx2_pHluorin. Es ist das Reaktionsgefäß mit dem pH-Meter, der Wassertemperaturierung und dem Magnetrührer, die Pumpe, die die Kultur zum Fluorimeter befördert, das Fluorimeter, die Begasungsanlage sowie die zwei Pumpen zur Aufrechterhaltung des extrazellulären pH-Werts zu sehen.

4.15 Mikroskopische Methoden

Für Phasenkontrast-mikroskopische Aufnahmen wurden 1–3 μl einer Zellsuspension auf einen Objektträger aufgebracht, der mit einer dünnen Schicht Agarose (Invitrogen, Darmstadt) bedeckt war. Die Fotos wurden bei einer 1.000-fachen Vergrößerung mit einem Carl Zeiss Mikroskop des Typs „Zeiss Axio Imager.M2“ (Carl Zeiss, Gottingen) aufgenommen, das mit einem „Plan-Apochromat 100x/1,4 Oil Ph3“-Objektiv und einer „Axio Cam MRm“-Kamera ausgestattet war. Die Auswertung der Aufnahmen erfolgte mithilfe der Software AxioVision Rel. 4.8.2 (Carl Zeiss, Gottingen).

4.16 Zellgrößenanalyse

Um die Zellgröße zu bestimmen wurde während der Kultivierung 2 ml Proben entnommen und sofort mit einer isotonischen ready-to-use Verdünnungsflüssigkeit (CASYton, Roche) 1:200 bis 1:2.000 verdünnt. Die Zellgröße wurde mit einem Multisizer™ 3 COULTER COUNTER® von Beckman Coulter bestimmt.

5 Ergebnisse

5.1 Anaerobe Verstoffwechslung und anaerobes Wachstum von *C. glutamicum* mit unterschiedlichen C-Quellen

Es ist bekannt, dass *C. glutamicum* unter anaeroben Bedingungen metabolisch aktiv ist und Glucose zu Lactat, Succinat und Acetat umsetzt. Signifikantes anaerobes Wachstum wurde bisher jedoch nur in Anwesenheit von Nitrat beobachtet (Nishimura *et al.*, 2007; Takeno *et al.*, 2007). Weiterhin wurde festgestellt, dass *C. glutamicum* bei hohen Zelldichten unter anaeroben Bedingungen kein Zellwachstum zeigt (Inui *et al.*, 2004). Daher wurde im ersten Teil dieser Arbeit untersucht, ob *C. glutamicum* bei geringen Zelldichten anaerob wachsen kann. Hierfür wurden *C. glutamicum* Wildtyp-Zellen in CGXII-Minimalmedium mit den Kohlenstoffquellen Glucose, Fructose, Saccharose, Ribose, Gluconat, Pyruvat, Lactat, Acetat oder Propionat in Serumflaschen unter anaeroben Bedingungen kultiviert. Alle genannten Kohlenstoffquellen ermöglichen aerobes Wachstum von *C. glutamicum* (Blombach und Seibold, 2010; Han *et al.*, 2007; Hüser *et al.*, 2003; Stansen *et al.*, 2005; Wendisch *et al.*, 1997). Während der Kultivierung wurden Wachstum (OD_{600}), pH-Wert des Mediums, Verbrauch an Kohlenstoffquelle und ausgeschiedene organische Säuren bestimmt.

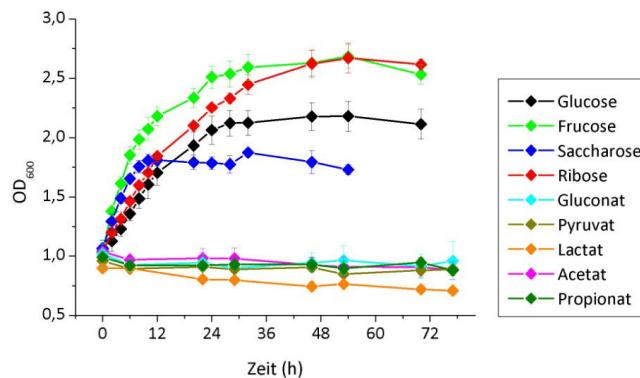


Abbildung 5: Anaerobes Wachstum von *C. glutamicum* Wildtyp in CGXII-Minimalmedium mit jeweils 100 mM der angegebenen Kohlenstoffquellen. Der Mittelwert und die Standardabweichung von mindestens drei unabhängigen biologischen Replikaten sind dargestellt.

Wie in Abbildung 5 dargestellt, zeigte *C. glutamicum* mit Glucose, Fructose, Saccharose und Ribose als Kohlenstoffquelle anaerobes Wachstum, jedoch nicht exponentiell, sondern linear (in der ersten Phase). Die OD₆₀₀ stieg in einem Zeitraum von etwa 30 h von 1,0 auf 1,9 (Saccharose), auf 2,2 (Glucose) und auf 2,7 (Fructose und Ribose). Demgegenüber war mit Gluconat, Pyruvat, Lactat, Acetat und Propionat keine Zunahme der OD₆₀₀ und somit kein Wachstum zu beobachten. Dieses negative Resultat belegt, dass das mit Glucose, Fructose, Saccharose und Ribose beobachtete Wachstum nicht auf Restsauerstoff in der Kultur zurückzuführen war, denn dann hätte auch mit den anderen C-Quellen Wachstum möglich sein sollen. Während des Wachstums mit den vier genannten C-Quellen wurden Succinat und Lactat in das Medium sekretiert, was zu einer Ansäuerung des Mediums führte. Acetat wurde nach ca. 32 h sekretiert. Nach Erreichen der stationären Phase produzierten die Zellen weiterhin organische Säuren, das heißt, sie waren nach wie vor metabolisch aktiv, jedoch nicht mehr in der Lage zu wachsen. Abbildung 6 zeigt exemplarisch das anaerobe Wachstum, den pH-Verlauf, die Glucoseabnahme und die Lactat-, Succinat- und Acetatproduktion in CGXII-Minimalmedium mit 100 mM Glucose. Eine C-Bilanz ergab, dass 92% der Glucose zu Lactat, Succinat und Acetat umgesetzt wurde, während die verbleibenden 8% vermutlich für Biomasse oder nicht analysierte Nebenprodukte verwendet wurden. Die Bildung von CO₂ ist in dieser Berechnung nicht inbegriffen. Mit Fructose, Saccharose und Ribose sah die Produktbildung vergleichbar aus. Der Kohlenstoffverbrauch (mM/g BTM) und die Lactat-Succinat- und Acetatproduktion waren bei Glucose und Fructose vergleichbar. Der Kohlenstoffverbrauch war mit Saccharose und Ribose erhöht im Vergleich zu Glucose und Fructose (Tabelle 4).

Anaerobes Wachstum wurde auch im Bioreaktor getestet, hierbei wurde MOPS-freies CGXII-Minimalmedium mit 100 mM Glucose verwendet. Dabei konnte eine vergleichbare Zunahme der OD₆₀₀ wie in den Serumflaschen festgestellt werden (Daten nicht gezeigt).

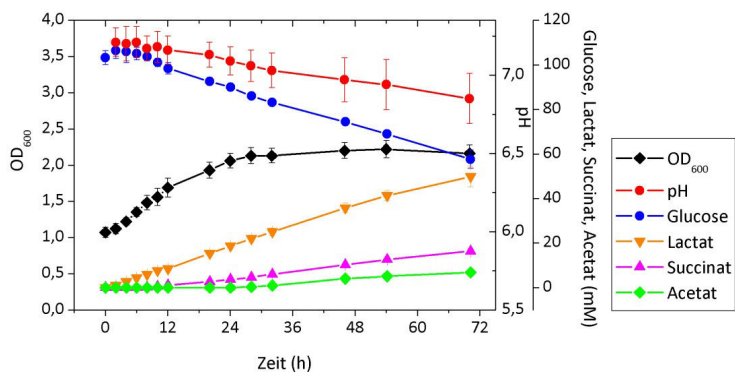


Abbildung 6: Anaerobe Kultivierung von *C. glutamicum* Wildtyp in CGXII-Minimalmedium mit 100 mM Glucose. Analysiert wurden die optische Dichte, der pH des Mediums, die Glucoseabnahme sowie die Lactat-, Succinat- und Acetatproduktion. Der Mittelwert und die Standardabweichung von vier biologisch unabhängigen Kultivierungen sind dargestellt.

Tabelle 4: Biotrockenmasse, Kohlenstoffverbrauch, Succinat-, Lactat- und Acetatbildung nach 46 h Kultivierung von *C. glutamicum* Wildtyp. Die Zellen wurden in Serumflaschen unter anaeroben Bedingungen in CGXII-Minimalmedium mit 100 mM Glucose, Fructose, Saccharose oder Ribose kultiviert. Mittelwerte und Standardabweichungen aus drei Experimenten sind dargestellt.

Kohlenstoff- quelle	Biotrockenmasse (g/l)	Kohlenstoff- verbrauch (mM)	Kohlenstoff- verbrauch (mM/BTM)	Produkte (mM)		
				Succinat	Lactat	Acetat
Glucose	0,55 ± 0,03	28,8 ± 2,5	52,4	10,2 ± 0,8	35,8 ± 2,2	13,2 ± 9,2
Fructose	0,66 ± 0,03	43,0 ± 2,9	65,2	13,9 ± 3,2	47,9 ± 4,5	8,6 ± 4,1
Saccharose	0,45 ± 0,02	37,1 ± 1,4	82,4	9,5 ± 0,4	53,0 ± 2,5	3,2 ± 0,2
Ribose	0,66 ± 0,03	46,3 ± 3,6	70,2	11,0 ± 0,6	48,3 ± 4,0	5,6 ± 0,5

5.2 Co-Verstoffwechselung von Gluconat und Pyruvat von *C. glutamicum* unter anaeroben Bedingungen

Zusätzlich zu den unter 5.1 beschriebenen anaeroben Wachstumsuntersuchungen wurde auch das Wachstum auf sämtlichen Kombinationen von je zwei der oben genannten Kohlenstoffquellen getestet (Tabelle 5). Dabei zeigte sich, dass Glucose, Fructose, Saccharose, Ribose und Pyruvat co-verstoffwechselt werden, die anderen Kohlenstoffquellen werden nicht co-verstoffwechselt, mit Ausnahme von Gluconat und Pyruvat. *C. glutamicum* kann weder mit Gluconat noch mit Pyruvat wachsen, jedoch mit einer Kombination aus diesen beiden Kohlenstoffquellen (100 mM Gluconat + 25 mM Pyruvat) (Abbildung 7A). Die Analyse der Kulturüberstände ergab, dass die Zellen unter anaeroben Bedingungen nach 12 h etwas Alanin produzierten (ca. 2 mM Alanin mit Gluconat + Pyruvat), wenn Pyruvat im

Medium vorhanden war. Nur ein kleiner Teil des Pyruvats wurde zu Alanin umgesetzt, die Hauptmenge des Pyruvats wurde höchstwahrscheinlich zu Acetat und Lactat verstoffwechselt und über die anaplerotischen Reaktionen in den reduktiven Teil des TCA-Zyklus geschleust. Mit Gluconat oder Glucose alleine im Medium war kein Alanin im Überstand detektierbar. Um zu zeigen, dass der Alanin-Metabolismus für das Wachstum mit Gluconat und Pyruvat ausschlaggebend ist, wurde der Alanin-auxotrophe Stamm *C. glutamicum* $\Delta alaT\Delta avtA$ (Marienhagen und Eggeling, 2008) anaerob in Minimalmedium mit 3 mM Alanin und 100 mM Glucose oder 100 mM Gluconat und 25 mM Pyruvat kultiviert (Abbildung 7B). Die Gene *alaT* und *avtA* codieren Aminotransferasen, wobei beide Proteine Pyruvat zu L-Alanin umsetzten, dabei verbraucht AlaT Glutamat und AvtA L-Valin. Mit Glucose konnte der Stamm wachsen, jedoch nicht mit einer Kombination aus Gluconat und Pyruvat.

Tabelle 5: Verstoffwechslung von je zwei Kohlenstoffquellen (Glucose, Fructose, Saccharose, Ribose, Acetat, Propionat, Gluconat, Lactat und Pyruvat) von *C. glutamicum* Wildtyp. Orangene Felder: Co-Verstoffwechslung, blaue Felder: Verstoffwechslung einer Kohlenstoffquelle, grüne Felder: keine Verstoffwechslung, graues Feld: nicht bestimmt.

	Glucose	Fructose	Saccharose	Ribose	Pyruvat	Acetat	Propionat	Gluconat
Fructose								
Saccharose								
Ribose								
Pyruvat								
Acetat	nur Glucose	nur Fructose	nur Saccharose	nur Ribose	nur Pyruvat			
Propionat	nur Glucose	nur Fructose	nur Saccharose	nur Ribose	nur Pyruvat			
Gluconat		nur Fructose	nur Saccharose	nur Ribose				
Lactat	nur Glucose	nur Fructose	nur Saccharose	nur Ribose	nur Pyruvat			

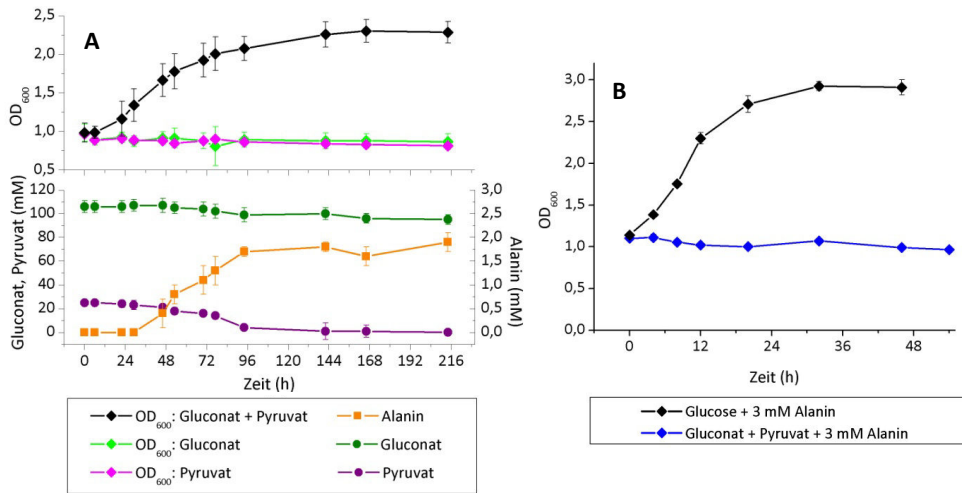


Abbildung 7: (A) Anaerobes Wachstum von *C. glutamicum* Wildtyp in CGXII-Minimalmedium mit 100 mM Gluconat + 25 mM Pyruvat, 100 mM Gluconat und 100 mM Pyruvat, sowie die Gluconat- und Pyruvatabnahme und die Alaninproduktion. (B) Anaerobes Wachstum von *C. glutamicum* $\Delta alaT\Delta avtA$ in CGXII-Minimalmedium mit 100 mM Glucose + 3 mM Alanin bzw. 100 mM Gluconat + 25 mM Pyruvat + 3 mM Alanin. Der Mittelwert und die Standardabweichung von drei biologisch unabhängigen Kultivierungen sind dargestellt.

Gluconat wird nach dem Transport in die Zelle zu 6-Phosphogluconat phosphoryliert und dann von der 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase (Gnd) zu Ribulose-5-phosphat oxidiert. Die Gnd reduziert gleichzeitig $NADP^+$. Es wurde gezeigt, dass dieses Enzym von NADPH inhibiert wird (Moritz *et al.*, 2000). Möglicherweise ist der NADPH-Spiegel in der anaeroben Zelle bei der Verstoffwechselung von Gluconat so hoch, dass die Gnd-Aktivität vollständig inhibiert wird und Gluconat daher nicht verstoffwechselt werden kann. Um den NADPH-Spiegel in der anaeroben Zelle zu senken, wurden die Transhydrogenasen PntAB und UdhA aus *Escherichia coli* plasmidkodiert in *C. glutamicum* Wildtyp gebracht. PntAB ist unter aeroben Bedingungen in *C. glutamicum* aktiv (Kabus *et al.*, 2007a). Über die Expression oder Aktivität von UdhA in *C. glutamicum* ist nichts bekannt. Beide Transhydrogenasen reduzieren $NADP^+$ und oxidieren NADH, wobei die Reaktion auch in umgekehrte Richtung laufen kann (Boonstra *et al.*, 1999; Jackson, 2003). PntAB nutzt dabei die Energie der PMK, UdhA katalysiert die Reaktion energieunabhängig (Sauer *et al.*, 2004). Es wurden beide Transhydrogenasen getestet um die Möglichkeiten der NADPH-Oxidation zu bestimmen. Wenn die Transhydrogenasen in *C. glutamicum* NADPH oxidieren so wäre der NADPH-Spiegel gesenkt, die Gnd wäre von NADPH nicht inhibiert und die Stämme könnten mit Gluconat wachsen. Mit den Stämmen *C. glutamicum* pEKEx2_pntAB (Kabus *et al.*, 2007a) und

C. glutamicum pAN6_udhA (diese Arbeit) wurden anaerobe Wachstumsversuche in Minimalmedium in Serumflaschen durchgeführt. Als Kohlenstoff- und Energiequelle diente Glucose oder Gluconat einzeln und Gluconat in Kombination mit Pyruvat. *C. glutamicum* pEKEx2_pntAB zeigte jedoch keine Wachstumsunterschiede im Vergleich mit dem Stamm mit Leerplasmid bei Kultivierung mit allen drei Kohlenstoffquellen/-kombinationen. *C. glutamicum* pAN6_udhA zeigte ebenfalls keine Wachstumsunterschiede im Vergleich mit dem Stamm mit Leerplasmid in Medium mit Glucose oder Gluconat, jedoch wuchs er mit Gluconat und Pyruvat nicht, wobei der Stamm mit Leerplasmid wuchs (Daten nicht gezeigt). Möglicherweise reduziert die UdhA das NADP⁺, das bei der Alaninproduktion gewonnen wurde und somit ist die Gnd inhibiert.

5.3 Einfluss von Medienzusätzen auf das anaerobe Wachstum mit Glucose

Es ist vorstellbar, dass das geringe Wachstum, das *C. glutamicum* unter anaeroben Bedingungen mit den genannten C-Quellen zeigt, darauf zurückzuführen ist, dass die Synthese eines essentiellen Wachstumsfaktors strikt abhängig von Sauerstoff ist. Z. B. wächst *Clostridium perfringens* in Glucose-Minimalmedium unter anaeroben Bedingungen mit Nikotinsäure viel besser als ohne (Fuchs und Bonde, 1957). Daher wurden anaerobe Wachstumsversuche in CGXII-Glucose-Minimalmedium durchgeführt, das mit je 2 g/l Komplexmedium supplementiert wurde. Durch die Zugabe von Hefeextrakt, BHI oder Nutrient Broth (Difco) wurde ein breites Spektrum an Zellbestandteilen, die zum Wachstum notwendig sind, abgedeckt. In BHI ist Kalbshirn, Rinderherz, Pepton, Glucose, Natriumchlorid und Dinatriumhydrogenphosphat, in Nutrient Broth ist Rinderextrakt und Pepton enthalten. Es zeigte sich, dass die Kulturen mit jedem der genannten Zusätze linear wuchsen und eine höhere maximale OD₆₀₀ erreichten als die Kontroll-Kulturen ohne Zusatz (Abbildung 8). Die höchste maximale OD₆₀₀ von ca. 7 erreichten die Zellen mit Hefeextrakt ($\mu = 0,09$). Daraufhin wurde untersucht, welche Bestandteile der Komplexmedien die Wachstumsverbesserung hervorrufen. Hierzu wurde das CGXII-Glucose-Minimalmedium mit verschiedenen Stoffwechselintermediaten, Fettsäuren, Vitaminen, Lipiden und Peptiden supplementiert.

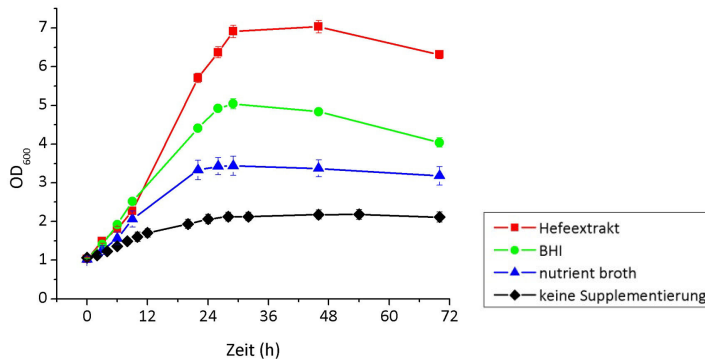


Abbildung 8: Anaerobes Wachstum von *C. glutamicum* Wildtyp in CGXII-Minimalmedium mit 100 mM Glucose und je 2 g/l der genannten komplexen Zusätze. Der Mittelwert und die Standardabweichung von drei biologisch unabhängigen Kultivierungen sind dargestellt.

Stoffwechselintermediate

In Tabelle 6 sind die Stoffwechselintermediate und die Enzyme mit den dazugehörigen E.C.-Nummern angegeben, die in der Biosynthese des jeweiligen Stoffwechselintermediats eine Rolle spielen, dargestellt. Die Intermediate wurden auf BHIS-Agarplatten ausplattiert und den BHIS-Kulturen zugesetzt, die zusätzlich mit 21 g/l MOPS gepuffert wurden, sowie zu CGXII-Minimalmedium mit 100 mM Glucose zugegeben. Weiterhin wurde eine Kombination aller Stoffwechselintermediate außer Menadion und Hemin getestet. In Vorversuchen hatte sich gezeigt, dass *C. glutamicum* mit Menadion und Hemin in Glucose-Minimalmedium unter anaeroben Bedingungen nicht wachsen kann. Die Platten und die Flüssigkulturen wurden mit *C. glutamicum* Wildtyp-Zellen angimpft und bei 30°C inkubiert. Die Platten wurden jeweils aerob und anaerob, die Flüssigkulturen nur anaerob kultiviert.

Mit allen Supplementierungen wuchsen die Zellen unter aeroben Bedingungen auf Platten, außer mit Menadion, in dessen Gegenwart keine Kolonien sichtbar waren. Möglicherweise wirkt Menadion toxisch auf die Zellen. Mit Hemin, welches das Wachstum verlangsamte oder unterdrückte, wurden nur sehr winzige Kolonien nach fünf Tagen Inkubation gebildet. Unter anaeroben Bedingungen ermöglichte keine der Supplementierungen sichtbares Wachstum auf Agarplatten. Auch die Supplementierungen der Flüssigmedien ermöglichten keine Wachstumsverbesserung unter anaeroben Bedingungen von *C. glutamicum* Wildtyp (Daten nicht gezeigt).

Tabelle 6: Stoffwechselintermediate für die Supplementierung zur Verbesserung des anaeroben Wachstums von *C. glutamicum*. Es sind die Enzyme mit den dazugehörigen E.C.-Nummern angegeben, die in der Biosynthese des jeweiligen Stoffwechselintermediats eine Rolle spielten. Diese Enzyme sind sauerstoff- oder NAD⁺-abhängig.

Stoffwechsel- intermediat	Endkonzentration (mM)	Vorkommen des Stoffwechselintermediats	Enzym	E.C. Nummer
Ergosterol	0,2	Zellwandbestandteil bei Pilzen	Squalen-Momooxygenase Sterol 14-Demethylase C-5 Sterol-Desaturase	1.14.13.132 1.14.13.70 1.3.3.-
Trehalose	0,2	Allgemeines Stressschutzmittel		
Pyrimidin	0,2	Nucleosidsynthese	Dihydroorotat-Dehydrogenase	1.3.3.1
Uridin	0,2	Uracilsynthese		
Orotat	0,2	Intermediat der Pyrimidinbiosynthese	Dihydroorotat-Dehydrogenase	1.3.3.1
Hemin	0,2	Eisenhomöostase	Heme-Oxygenase	1.14.99.3
Vitamin K1	0,1	Wachstumsfaktor, der zum Medium vieler anaerober Bakterien gegeben wird		
Nicotinsäure	0,2	Baustein von NAD und NADP	2,3-Tryptophan-Dioxygenase	1.13.11.11

Vitamine, Fettsäuren und Lipide

Für die Supplementierung mit Fettsäuren wurde entweder ein Fettsäuremix („Fatty Acid Supplement“ von Sigma, geeignet für Zellwachstum und Proteinexpression, Zusammensetzung geheim) oder Oleat (+ Brij35) verwendet. *C. glutamicum* ist in der Lage Fettsäuren aufzunehmen und zu metabolisieren (Gerstmeir *et al.*, 2003). Ebenso wurde ein Lipidmix („Lipid Mixture (1000x)“ von Sigma: Cholesterol, Lebertranöl, Tween80, D- α -Tocopherolacetat) und ein Vitaminmix („BME Vitamins 100x solution“ von Sigma: myo-Inositol, Thiamin, Pyridoxal, Pantothenat, Nicotinamid, Cholin, Biotin, Folsäure, Riboflavin) verwendet. Tween80 wird von *C. glutamicum* aufgenommen und für die Zellwandsynthese verwendet (Chevalier *et al.*, 1988). Lebertranöl besteht aus unterschiedlichen Lipiden und Fetten und ist nicht definiert. Das anaerobe Wachstum konnte durch die Supplementierung mit den verwendeten Vitaminen, Fettsäuren und Lipiden nicht verbessert werden (Daten nicht gezeigt).

Protein, Peptide und Aminosäuren

In allen eingesetzten Komplexmedien befindet sich eine hohe Konzentration an Peptiden. *C. glutamicum* kann Peptide über Aufnahmesysteme, die durch die PMK angetrieben werden, in die Zelle schleusen und diese anschließend mit cytoplasmatischen Hydrolasen spalten. Die erhaltenen Aminosäuren werden höchstwahrscheinlich von *C. glutamicum* zur Synthese von Proteinen verwendet (Bellmann *et al.*, 2001; Erdmann *et al.*, 1993; Hermann und Krämer, 1996; Mustafi *et al.*, 2012; Zittrich und Krämer, 1994). Das anaerobe Wachstum von *C. glutamicum* Wildtyp wurde in CGXII-Minimalmedium + 222 mM Glucose mit verschiedenen Konzentrationen an Protein, Peptiden und Aminosäuren (2/5/10 g/l Casein, 5/10 g/l Casamino acids, 5/10/15/20 g/l Pepton oder Trypton) untersucht und parallel der pH-Verlauf aufgezeichnet. Wie in Abbildung 9 dargestellt, verbesserten alle genannten Proteine, Peptide bzw. Aminosäuren das anaerobe Wachstum. Mit 10 g/l Casein, Casamino Acids und Pepton wuchsen die Zellen bis zu einer maximalen OD₆₀₀ von ca. 8 (Abbildung 9A, B und C). Bei höheren Konzentrationen von Pepton (15 oder 20 g/l) erreichten die Zellen keine höhere OD₆₀₀. Die höchsten optischen Dichten wurden mit Trypton erreicht. Die maximale OD₆₀₀ stieg von 2 (0 g/l) bis zu maximal 11,8 an, die mit 15 g/l Trypton erreicht wurde (Abbildung 9D), wobei eine weitere Erhöhung der Tryptonkonzentration das Wachstum nicht weiter förderte. Die Aminosäuren Alanin, Arginin, Asparagin, Asparagat, Glutamat, Glutamin, Glycin und Threonin sind in Casein und somit auch in Trypton im Vergleich zu den Proteinen von *C. glutamicum* unterrepräsentiert (Tabelle 7). Dies könnte eine mögliche Ursache für die Erreichung der maximalen OD₆₀₀ nur durch Zugabe von hohen Mengen an Trypton sein. Es ist überraschend, dass *C. glutamicum* mit Trypton eine höhere OD₆₀₀ erreicht als mit der gleichen Menge an Pepton, da beide aus dem gleichen Protein, Casein hergestellt werden. Der einzige Unterschied ist, dass Casein zur Herstellung von Trypton mit Trypsin und von Pepton mit Pepsin gespalten wird. Möglicherweise kann *C. glutamicum* die Peptide des Peptons schwerer aufnehmen als die Peptide des Tryptons. Bei der Supplementierung mit 15 g/l Trypton wuchsen die Zellen in den ersten 6 h exponentiell mit einer Wachstumsrate von 0,10 1/h (Tabelle 8). Zur Kontrolle wurde *C. glutamicum* in CGXII-Minimalmedium ohne Glucose und mit 15 g/l Trypton kultiviert. Die Zellen konnten nicht wachsen, das heißt, *C. glutamicum* benötigt unter anaeroben Bedingungen Zucker als Energiequelle (Abbildung 9D). Unter aeroben Bedingungen erreicht *C. glutamicum* Wildtyp in CGXII-Minimalmedium mit 15 g/l Trypton

ohne sonstige Kohlenstoff- und Energiequelle innerhalb von 24 h eine maximale OD₆₀₀ von ca. 4 bei einer Start-OD₆₀₀ von 1, der pH-Wert steigt während der Kultivierung von 7,1 auf 8,2 an (Daten nicht gezeigt).

Tabelle 7: Vergleich der Aminosäureverteilung in Casein und in Proteinen von *C. glutamicum*. Die Aminosäuren deren Anteil in Casein geringer ist als in Proteinen von *C. glutamicum* sind hervorgehoben. Die Berechnung der Aminosäureverteilung in Casein basieren auf den quantitativen Bestimmungen von α_{S1} -, α_{S2} -, β -, γ - und κ -Casein in Kuhmilch (Bramanti *et al.*, 2003) und die in *C. glutamicum* basieren auf den experimentell ermittelten Daten von Coccagn-Bousquet *et al.* (Coccagn-Bousquet *et al.*, 1996).

Aminosäure	%uale Aminosäureverteilung	
	Casein	<i>C. glutamicum</i>
Alanin	5,27	16,38
Arginin	2,32	4,29
Asparagin	3,31	4,23
Asparagat	2,34	4,23
Cystein	0,60	0,02
Glutamat	7,84	10,98
Glutamin	9,42	10,98
Glycin	2,72	7,77
Histidin	2,11	1,42
Isoleucin	5,46	3,95
Leucin	10,36	5,92
Lysin	6,31	3,86
Methionin	2,81	0,11
Phenylalanin	3,88	2,78
Prolin	11,58	3,34
Serin	7,32	5,99
Threonin	4,53	6,10
Tryptophan	0,66	0,02
Tyrosin	3,45	1,67
Valin	7,70	5,92

Um den Einfluss von Trypton auf den Stoffwechsel unter anaeroben Bedingungen zu testen, wurden der Glucoseverbrauch und die Bildung organischer Säuren beim Wachstum mit verschiedenen Trypton-Konzentrationen nach 46 h bestimmt (Tabelle 8) und im Falle des Versuchs mit 15 g/l Trypton auch die Kinetik von Substratverbrauch und Produktbildung verfolgt (Abbildung 10). Der Glucoseverbrauch pro BTM und die absolute Succinat-, Lactat- und Acetatbildung unterscheiden sich nicht signifikant bei Kultivierung mit unterschiedlichen Trypton-Konzentrationen. Wird die Kultivierung ohne Trypton mit den Kultivierungen mit Trypton verglichen, so zeigt sich, dass der Glucoseverbrauch pro BTM höher ist, während die

absolute Lactat- und Succinatbildung niedriger ist, bei Kultivierung ohne Trypton (Tabelle 8). Die Ergebnisse zeigen, dass *C. glutamicum* unter anaeroben Bedingungen durch Fermentation hohe Zelldichten erreichen kann.

Tabelle 8: Wachstumsrate, Biotrockenmasse, Glucoseverbrauch, Succinat-, Lactat- und Acetatbildung nach 46 h anaerober Kultivierung in Serumflaschen von *C. glutamicum* Wildtyp in CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose ohne Trypton oder verschiedenen Tryptonkonzentrationen. *Kein exponentielles Wachstum detektiert.

Trypton- konzentration	Wachstums- rate μ (1/h)	Biotrocken- masse (g/l)	Glucose- verbrauch (mM)	Produkte (mM)		
				Succinat	Lactat	Acetat
0 g/l	*	0,52 \pm 0,01	24,8 \pm 4,8	9,0 \pm 0,5	26,6 \pm 9,6	10,4 \pm 8,0
5 g/l	0,11 \pm 0,01	2,06 \pm 0,03	80,0 \pm 6,5	23,0 \pm 0,2	137,5 \pm 2,0	9,3 \pm 0,1
10 g/l	0,11 \pm 0,01	2,76 \pm 0,02	100,6 \pm 7,1	26,3 \pm 1,1	158,9 \pm 3,9	10,2 \pm 0,2
15 g/l	0,10 \pm 0,01	2,93 \pm 0,04	103,4 \pm 9,3	29,6 \pm 0,3	175,1 \pm 2,6	7,0 \pm 5,0

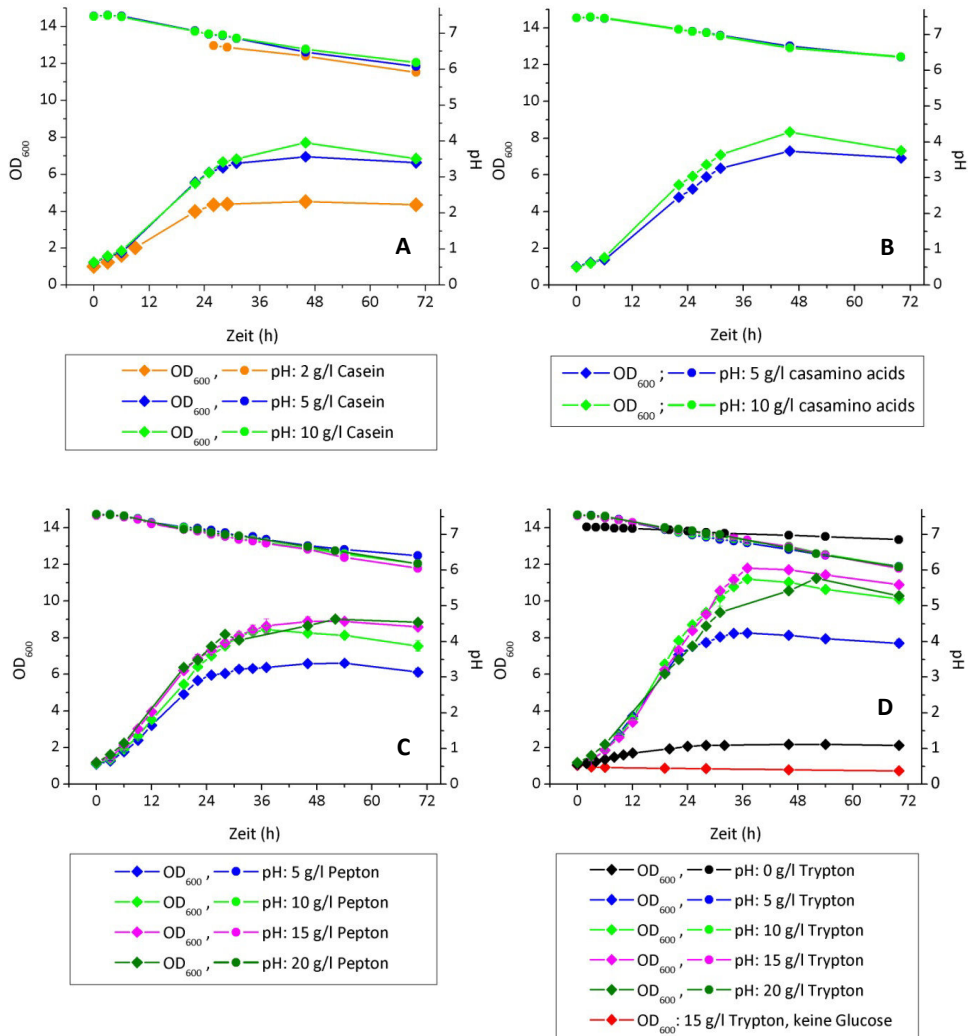


Abbildung 9: Anaerobes Wachstum von *C. glutamicum* Wildtyp in CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose und verschiedenen Konzentrationen an Casein (A), Casamino Acids (B), Pepton (C) und Trypton (D). Der Mittelwert von jeweils drei biologisch unabhängigen Kultivierungen ist dargestellt.

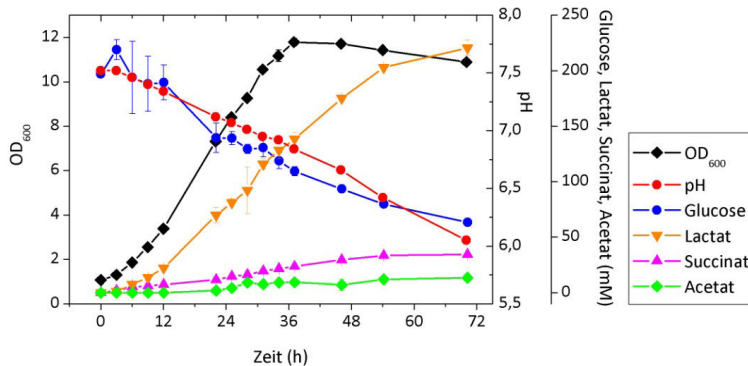


Abbildung 10: Anaerobes Wachstum von *C. glutamicum* Wildtyp in CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose + 15 g/l Trypton. Der Mittelwert und die Standardabweichung von jeweils drei biologisch unabhängigen Kultivierungen sind dargestellt.

Aminosäuren

In den vorhergehenden Versuchen wurde gezeigt, dass speziell Peptide das anaerobe Wachstum von *C. glutamicum* verbessern. Durch die Nutzung von Peptiden entsteht für die Zellen ein energetischer Vorteil. Sie müssen die Aminosäuren nicht mehr selbst synthetisieren und sparen dadurch Energie in Form von ATP. Die Energie, die eingespart wird, kann zur Biomassebildung verwendet werden. Im Umkehrschluss kann vermutet werden, dass der anaeroben Zelle Energie in Form von ATP zum Erreichen hoher optischer Dichten fehlt. Unter anaeroben Bedingungen kann *C. glutamicum* durch Substratkettenphosphorylierung ATP gewinnen. Während der Glykolyse wird zunächst Glucose durch das Phosphotransferasesystem (PTS_G) phosphoryliert wobei das Phosphat von Phosphoenolpyruvat (PEP) stammt. Im weiteren Verlauf verbraucht die 6-Phosphofructo-Kinase (PfkA) 1 mol ATP/mol Glucose, die Phosphoglycerat-Kinase (Pkg) und die Pyruvat-Kinase (Pyk) generieren jeweils 2 mol ATP/mol Glucose. Somit beträgt die Nettobilanz unter anaeroben Bedingungen nur 2 mol ATP/mol Glucose. Wohingegen *C. glutamicum* unter aeroben Bedingungen zusätzlich bis zu 23 mol ATP/mol Glucose durch oxidative Phosphorylierung bilden kann (Bott und Niebisch, 2003).

Um diese Vermutung, der anaeroben Zelle fehlt zum Erreichen hoher optischer Dichten Energie, zu bestätigen, wurden dem CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose in einem weiteren Wachstumsversuch mit *C. glutamicum* Wildtyp drei verschiedene Aminosäuremische in verschiedenen Kombinationen zugegeben. Alle Aminosäuren, deren Synthese sehr

energieaufwendig sind (3 – 7 ATP pro Molekül) sind in Mix I, alle Aminosäuren, für deren Synthese 1 oder 2 ATP pro Molekül gebraucht werden, sind in Mix II und alle Aminosäuren, deren Synthese keine Energie in Form von ATP benötigt, sind in Mix III zusammengefasst. Zur Berechnung des Bedarfs an ATP zur Synthese eines Aminosäurenmoleküls wird von den Vorläufermetaboliten Erythrose 4-Phosphat, α -Ketoglutarat, Oxalacetat, Phosphoenolpyruvat, 3-Phosphoglycerat, Pyruvat und Ribose 5-Phosphat ausgegangen (Neidhardt *et al.*, 1990). Die genaue Zusammensetzung der Mixe sowie die für die Synthese der Aminosäuren benötigte Energie in Form von ATP sind in Tabelle 9 dargestellt. Ebenso ist das Molekulargewicht jeder Aminosäure in der Biotrockenmasse von *C. glutamicum* angegeben (Cocaign-Bousquet *et al.*, 1996). Der prozentuale Anteil jeder Aminosäure wurde aus der Summe der Molekulargewichte jeder Aminosäure errechnet. In der letzten Spalte ist der ATP-Verbrauch pro Synthese eines Moleküls einer Aminosäure multipliziert mit dem prozentualen Anteil dieser Aminosäure in Proteinen von *C. glutamicum* errechnet. Es wurde eine Stocklösung hergestellt, in der die Konzentration jeder Aminosäure 8 mM betrug. Die Endkonzentration im Medium jeder Aminosäure betrug 0,8 mM. Diese Konzentration wurde gewählt um die Löslichkeit der Aminosäuren zu gewährleisten. Wird die Konzentration der Aminosäuren auf Trypton umgerechnet, so entspricht dies zwischen 0,80 g und 24,91 g Trypton. Wobei der direkte Vergleich zu keiner korrekten Schlussfolgerung führt, da davon ausgegangen werden muss, dass nicht alle Peptide des Tryptons in die Zelle aufgenommen werden.

Tabelle 9: Zusammensetzung der Aminosäuremixe I, II und III, die für die Synthese der jeweiligen Aminosäure notwendige Energie in Form von ATP, die experimentell ermittelte Aminosäurezusammensetzung in der Biomasse von *C. glutamicum* (Cocaign-Bousquet *et al.*, 1996) sowie der prozentuale Anteil der jeweiligen Aminosäure in der Biomasse von *C. glutamicum*. In der letzten Spalte ist der ATP-Verbrauch pro Synthese eines Moleküls einer Aminosäure multipliziert mit dem prozentualen Anteil dieser Aminosäure in der Biomasse von *C. glutamicum* errechnet.

Mix	AS	ATP/AS (mol/mol)	AS in C. g. (mmol/gBTM)	% in C. g. - Biomasse	ATP/AS * % in Biomasse
I	Arginin	7	0,190	4,29	30,06
	Methionin	7	0,005	0,11	0,79
	Histidin	6	0,063	1,42	8,54
	Tryptophan	5	0,001	0,02	0,11
	Cystein	4	0,001	0,02	0,09
	Asparagin	3	0,187	4,43	12,68
II	Isoleucin	2	0,175	3,95	7,91
	Lysin	2	0,171	3,86	7,73
	Threonin	2	0,270	6,10	12,20
	Glutamin	1	0,486	10,98	10,98
	Phenylalanin	1	0,123	2,78	2,78
	Prolin	1	0,148	3,34	3,34
	Tyrosin	1	0,074	1,67	1,67
III	Alanin	0	0,725	16,38	0
	Asparagat	0	0,187	4,23	0
	Glutamat	0	0,486	10,98	0
	Glycin	0	0,344	7,77	0
	Leucin	0	0,262	5,92	0
	Serin	0	0,265	5,99	0
	Valin	0	0,262	5,92	0
gesamt			4,235	100	

Die Zugabe von Aminosäuren (einzelne oder kombinierte Mixe) führt zum Erreichen höherer OD-Werte (Abbildung 11). Bei separater Supplementierung mit den drei einzelnen Mixen „I“, „II“, „III“ und der Kombination aus „II+III“ konnte eine maximale OD₆₀₀ zwischen 2,5 und 3 beobachtet werden, was etwas über der maximalen OD₆₀₀ des Ansatzes ohne Aminosäuren liegt. Die höchsten maximalen optischen Dichten von 4,5, 5 und 6 erreichen die Mixe „I+III“, „I+II“ und „I+II+III“. Die Anwesenheit von Mix I in Kombination mit Mix II und/oder III verbessert das anaerobe Wachstum erheblich. Daraus lässt sich schließen, dass die Bereitstellung von Energie mit ein Grund für das schlechte anaerobe Wachstum ist, jedoch nicht der einzige.

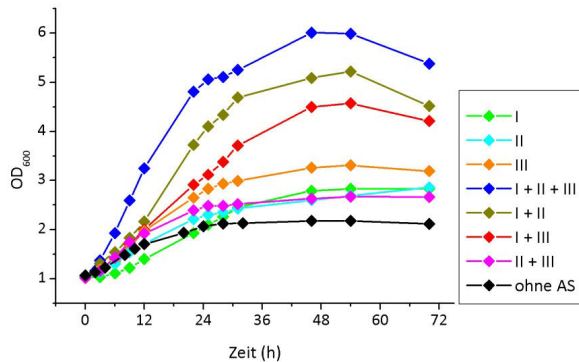


Abbildung 11: Anaerobes Wachstum von *C. glutamicum* Wildtyp in CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose und verschiedenen Aminosäurekombinationen. Der Mittelwert von drei unabhängigen biologischen Replikaten ist dargestellt.

Um die Wachstumsverbesserung durch Zugabe von Peptiden zu erklären gibt es eine zweite Möglichkeit. Die Synthese oder die Vorstufenbereitstellung von Aminosäurefamilien ist unter anaeroben Bedingungen gestört und die Zellen weisen einen Mangel an einer oder mehreren Aminosäuren einer Familie auf, was das geringe Wachstum erklären würde. Um dies zu überprüfen, wurden weitere Kultivierungen von *C. glutamicum* Wildtyp mit Zugabe anderer Aminosäure-Gemische (einzeln und in Kombination) durchgeführt (Abbildung 12A-C). Dabei wurden die Aminosäuren in ihre Familien eingeteilt, wobei jede Familie einen unterschiedlichen Biosyntheseweg aufweist. In Tabelle 10 sind alle daraus resultierenden Aminosäure-Mixe zusammengefasst. Ebenfalls ist die für die Synthese der Aminosäuren benötigte Energie in Form von ATP, der prozentuale Anteil jeder Aminosäure in Biomasse von *C. glutamicum* und der ATP-Verbrauch pro Synthese eines Moleküls einer Aminosäure multipliziert mit dem prozentualen Anteil dieser Aminosäure in Biomasse von *C. glutamicum* angegeben.

Tabelle 10: Aminosäuren nach Aminosäurefamilien unterteilt, die für die Synthese notwendige Energie in Form von ATP sowie der prozentuale Anteil der jeweiligen Aminosäure in Biomasse von *C. glutamicum*. In der letzten Spalte ist der ATP-Verbrauch pro Synthese eines Moleküls einer Aminosäure multipliziert mit dem prozentualen Anteil dieser Aminosäure in Biomasse von *C. glutamicum* errechnet.

Mix	AS	ATP/AS	% in C. g. – Biomasse	ATP/AS * % in Biomasse
1	Asparagatfamilie			
	Asparagat	0	4,23	0
	Methionin	7	0,11	0,79
	Asparagin	3	4,23	12,68
	Threonin	2	6,10	12,20
	Isoleucin	2	3,95	7,91
	Lysin	2	3,86	7,73
2	Glutamatfamilie			
	Glutamat	0	10,98	0
	Arginin	7	4,29	30,06
	Prolin	1	3,34	3,34
	Glutamin	1	10,98	10,98
3	Serinfamilie			
	Serin	0	5,99	0
	Cystein	4	0,02	0,09
	Glycin	0	7,77	0
4	Pyruvatfamilie			
	Leucin	0	5,92	0
	Valin	0	5,92	0
	Alanin	0	16,38	0
5	Aromaten-Familie			
	Tryptophan	5	0,02	0,11
	Tyrosin	1	1,67	1,67
	Phenylalanin	1	2,78	2,78
6	Histidin	6	1,42	8,54

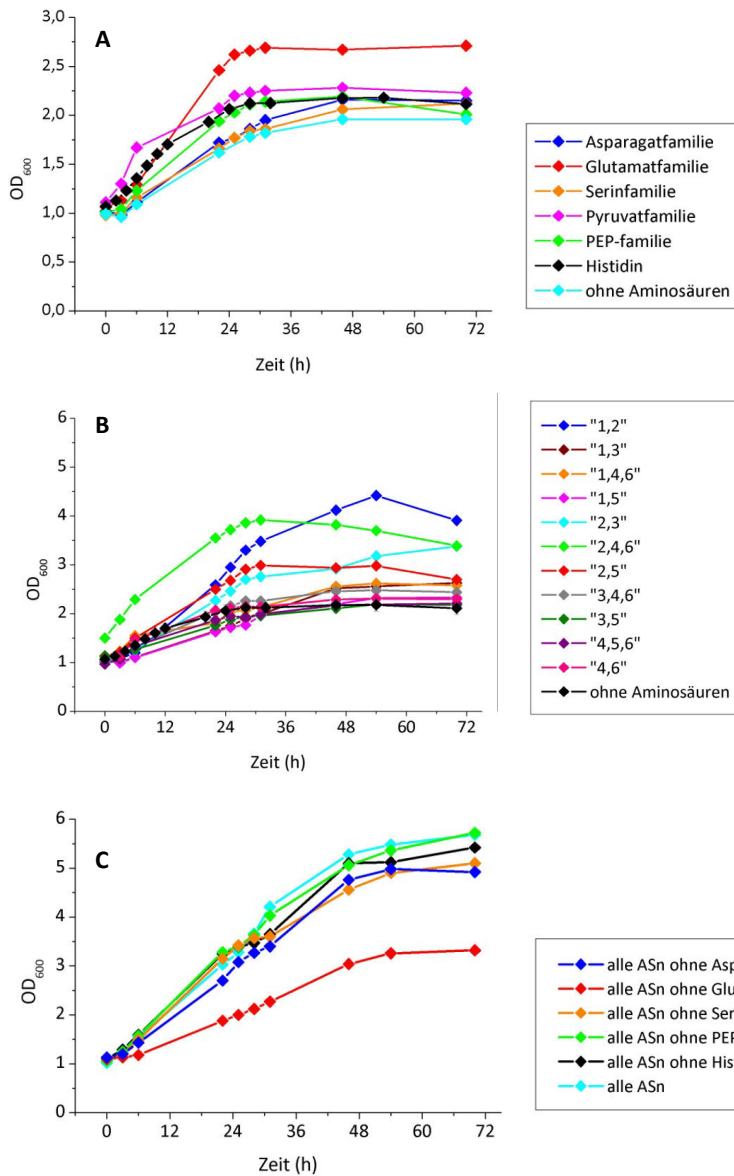


Abbildung 12: Anaerobes Wachstum von *C. glutamicum* Wildtyp in CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose supplementiert mit (A) Aminosäuren einer bestimmten Familie, (B) mehreren Aminosäurefamilien oder (C) allen Aminosäurefamilien außer einer. Die Nummerierung der Mixe ist in Tabelle 10 aufgelistet. Das Experiment wurde 2-mal wiederholt und führte zu vergleichbaren Resultaten. Exemplarisch ist das Wachstum von einer Kultivierungsreihe dargestellt.

Bei Zugabe der Aminosäuren der Glutamat-Familie erreichen die Zellen eine maximale OD₆₀₀ von ca. 2,7, während sie bei Zugabe aller anderen Familien eine maximale OD₆₀₀ von 2

erreichen, die sie auch ohne Aminosäurezusätze erreichen (Abbildung 12A). Diese Beobachtung wird durch die Wachstumsversuche mit zahlreichen Kombinationen aus zwei oder drei Aminosäurefamilien bestätigt. So erreicht *C. glutamicum* nur dann deutlich höhere OD-Werte, wenn die Aminosäuren der Glutamatfamilie zugefügt wurden (Abbildung 12B). Supplementiert man das Medium hingegen mit allen Aminosäuren bis auf die Aminosäuren jeweils einer Familie, erreichen alle Kulturen eine OD₆₀₀ von 5 bis 6, außer denen, bei denen die Aminosäuren der Glutamatfamilie fehlen (Abbildung 12C). Diese erreichen eine maximale OD₆₀₀ von ca. 3. Auch hieraus lässt sich schließen, dass zum Erreichen der hohen OD₆₀₀-Werte die Aminosäuren der Glutamatfamilie notwendig sind. Der Vorläufer der Aminosäuren der Glutamatfamilie ist α -Ketoglutarat, das im oxidativen Teil des TCA-Zyklus synthetisiert wird. Unter anaeroben Bedingungen ist die Transkription der Gene des oxidativen Teil des TCA-Zyklus verringert, was eine verringerte α -Ketoglutarat-Bereitstellung zur Folge haben könnte (Nishimura *et al.*, 2011; Takeno *et al.*, 2007).

5.4 Einfluss der Hämoxygenase auf das anaerobe Wachstum von *C. glutamicum*

Eine Vielzahl an sauerstoffabhängigen Enzymen, sogenannte Oxygenasen, wurde im Zuge der Genomsequenzierung in *C. glutamicum* annotiert (Kalinowski *et al.*, 2003). Monooxygenasen übertragen ein Sauerstoffatom auf ihr Substrat, Dioxygenasen katalysieren Reaktionen, bei denen beide Sauerstoffatome des O₂-Moleküls in das Substrat eingebaut werden. Die meisten der annotierten Oxygenasen in *C. glutamicum* sind am Abbau von Benzolen beteiligt. Zum Beispiel besitzt *C. glutamicum* die Catechol-1,2-dioxygenase, die die Ringöffnung von Catechol und somit den ersten Schritt beim Abbau von Catechol katalysiert (Shen *et al.*, 2004). Die Reaktionen dieser Oxygenasen können nur stattfinden, wenn gelöster Sauerstoff vorhanden ist. Dies ist unter anaeroben Bedingungen nicht gegeben und somit sind diese Enzyme nicht funktionsfähig.

Wie in Kapitel 5.1 beschrieben, kann *C. glutamicum* in Minimalmedium mit Glucose unter anaeroben Bedingungen nur sehr schlecht wachsen. Eine Erklärung dafür könnte sein, dass die Aktivität einer oder mehrerer Oxygenasen für das Wachstum wichtig ist und diese Enzyme nicht durch alternative Reaktionen ersetzt werden können. Eine Oxygenase von *C. glutamicum* wurde in dieser Arbeit näher untersucht.

Einfluss der Hämoxygenase HmuO auf das anaerobe Wachstum von *C. glutamicum*

Unter aeroben Bedingungen kann *C. glutamicum* mit Hemin als einziger Eisenquelle wachsen (Frunzke *et al.*, 2011). Dafür verantwortlich ist die Monooxygenase HmuO, die die Spaltung von Häm zu Biliverdin, CO und freiem Eisen katalysiert. Somit ist HmuO auch an der Eisenhomöostase beteiligt. Unter anaeroben Bedingungen ist HmuO höchstwahrscheinlich nicht funktionsfähig, weil kein Sauerstoff für die Katalyse zur Verfügung steht. Das in Häm gespeicherte Eisen könnte unter anaeroben Bedingungen nicht mehr abgebaut werden. Häm kann in hohen Konzentrationen toxisch wirken und somit das Wachstum beeinflussen. Um zu überprüfen, ob HmuO unter anaeroben Bedingungen aktiv ist, wurden *C. glutamicum*-Zellen mit Hemin statt Eisen aerob vorkultiviert und die anaerobe Hauptkultur wurde in Serumflaschen in CGXII-Minimalmedium (ohne Eisen) mit 222 mM Glucose und Hemin (\pm 15 g/l Trypton) durchgeführt.

Die anaerobe Kultivierung mit Trypton und Hemin als Eisenquelle hat gezeigt, dass *C. glutamicum* bis zu einer OD_{600} von ca. 9 wachsen kann (Abbildung 13). Vermutlich nutzten die Zellen Eisen aus ihren Speicherproteinen. Bei OD_{600} 9 sind diese aufgebraucht und die Zellen stehen unter einem Eisenmangel, da sie nicht das vorhandene Hemin abbauen können.

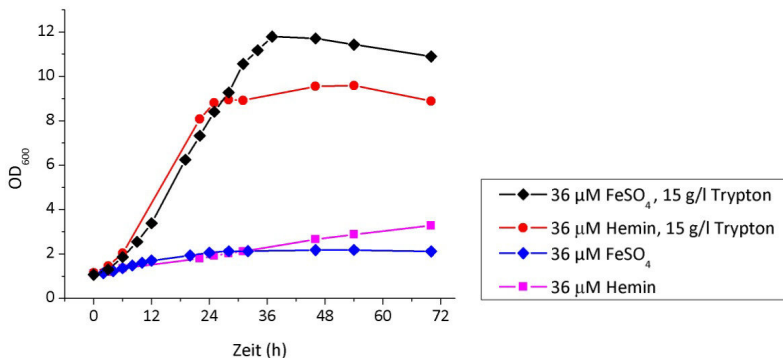


Abbildung 13: Anaerobes Wachstum von *C. glutamicum* Wildtyp in CGXII-Minimalmedium (ohne Eisen) mit 222 mM Glucose und 36 µM Hemin oder FeSO₄ mit und ohne Trypton. Der Mittelwert von mindestens zwei biologisch unabhängigen Kultivierungen ist dargestellt.

5.5 Einfluss der F_1F_o -ATP-Synthase auf das anaerobe Wachstum von *C. glutamicum*

In Abwesenheit von Sauerstoff und Nitrat können keine Protonen über die Atmungskette aus der Zelle gepumpt werden, um pH-Homöostase zu betreiben und protonenmotorische Kraft aufzubauen. Unter diesen Umständen könnte die F_1F_o -ATP-Synthase eine Funktion der Atmungskette übernehmen und Protonen aus der Zelle pumpen wie in der Diskussion für anaerobe fermentative Bakterien beschrieben (Harold und Papineau, 1972; Wilson und Lin, 1980). Allerdings würde die F_1F_o -ATP-Synthase kein ATP mehr generieren, sondern hydrolysieren. Da die anaerobe Zelle ATP nur über die Substratkettenphosphorylierung gewinnen kann, stehen den Zellen nur eine geringe Menge an ATP zur Verfügung. Durch den Verbrauch von ATP durch die F_1F_o -ATP-Synthase würde der anaeroben Zelle noch weniger ATP zur Verfügung stehen, was höchstwahrscheinlich ein eingeschränktes Wachstum zur Folge hätte.

Um zu ermitteln, welchen Einfluss die F_1F_o -ATP-Synthase auf das anaerobe Wachstum von *C. glutamicum* hat, wurde das anaerobe Wachstum, der Glucoseverbrauch, sowie die Lactat-, Succinat- und Acetatbildung von drei Stämmen mit unterschiedlichen ATPase-Aktivitäten in CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose in Serumflaschen verglichen: (i) *C. glutamicum* Wildtyp, (ii) *C. glutamicum* ΔF_1F_o , in dem das gesamte *atp* Operon deletiert wurde (Koch-Körfges *et al.*, 2012) und (iii) *C. glutamicum* AtpG-S273P (K. Krumbach, unveröffentlichte Arbeit). Die F_1F_o -ATP-Synthaseaktivität wird durch die Ser273Pro-Mutation in der γ -Untereinheit des F_1 -Komplexes verringert (Sekine *et al.*, 2001). Um die Auswirkungen der *atp*-Deletion und der AtpG-S273P-Mutation zu kontrollieren, wurde die ATPase-Aktivität der drei Stämme bestimmt. Dazu wurden sie aerob in CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose kultiviert und bei einer OD_{600} von 5 geerntet. Die Membranfraktion wurde isoliert und für die Bestimmung der ATPase-Aktivität mit einem gekoppelten enzymatischen Test mit Pyruvat-Kinase und Lactat-Dehydrogenase eingesetzt. Für den Wildtyp wurde eine Aktivität von 0,40 nmol/min/mg Protein bestimmt (100%), für die AtpG-S273P-Mutante von 0.12 nmol/min/mg (31%) und für die ΔF_1F_o -Mutante von 0.08 nmol/min/mg Protein (20%). Die Aktivität der ΔF_1F_o -Mutante war unerwartet hoch. Es könnte vermutet werden, dass die ATP-Synthase nicht vollständig deletiert wurde, jedoch

konnte Koch-Körffges *et al.* durch eine Proteomanalyse zeigen, dass keine ATP-Synthase in der Mutante vorhanden ist (Koch-Körffges *et al.*, 2012).

Bei anaerobem Wachstum mit Glucose erreichte die AtpG-S273P-Mutante die höchste OD₆₀₀ von ca. 4, gefolgt von der ΔF_1F_o -Mutante mit einer maximalen OD₆₀₀ von ca. 3,5 und dem Wildtyp mit einer OD₆₀₀ von 2 (Abbildung 14A). Die AtpG-S273P-Mutante wies auch den höchsten Glucoseverbrauch auf (94,4 mM), allerdings wurden nur $31 \pm 7\%$ des Kohlenstoffs zu Lactat, Succinat, Acetat und Biomasse umgesetzt. Es muss also noch ein oder mehrere weitere Produkte geben, um die C-Bilanz zu schließen (Tabelle 11). Im Wildtyp (23,7 mM) werden $99 \pm 10\%$ und in der ΔF_1F_o -Mutante (41,6 mM) $96 \pm 19\%$ des Kohlenstoffs zu den oben genannten organischen Säuren umgesetzt. Wobei die AtpG-S273P-Mutante signifikant weniger Acetat produzierte im Vergleich zu den beiden anderen Stämmen.

Um zu überprüfen, ob Peptide den gleichen stimulierenden Einfluss auf *C. glutamicum* ΔF_1F_o und *C. glutamicum* AtpG-S273P haben wie auf den Wildtyp, wurden Wachstumsversuche in Serumflaschen mit CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose und 15 g/l Trypton (oder 15 g/l Pepton, Daten nicht gezeigt) durchgeführt. Unter diesen Bedingungen erreichte der Wildtyp die höchste OD₆₀₀ von ca. 12, gefolgt von der AtpG-S273P-Mutante (maximale OD₆₀₀ ca. 7) und der ΔF_1F_o -Mutante mit einer maximalen OD₆₀₀ von ca. 6. (Abbildung 14B). Der Wildtyp wies den höchsten Glucoseverbrauch und die höchste Lactatbildung auf.

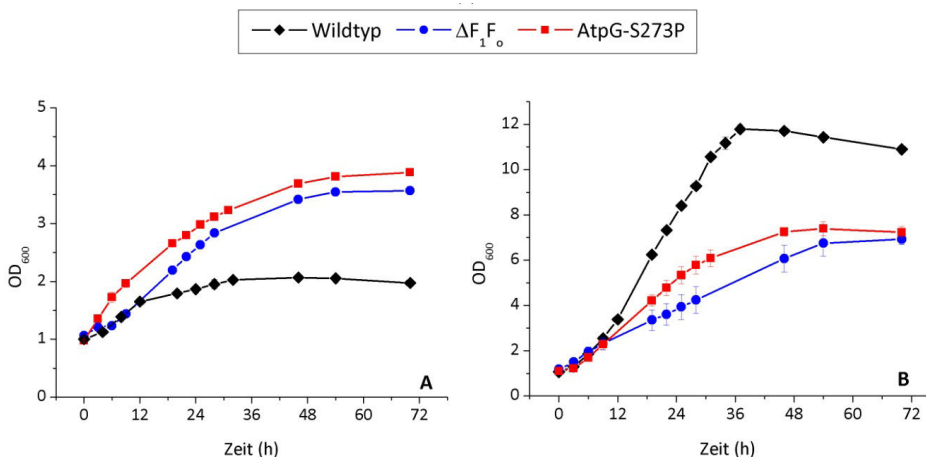


Abbildung 14: Anaerobes Wachstum von *C. glutamicum* Wildtyp, *C. glutamicum* ΔF_1F_o und *C. glutamicum* AtpG-S273P. Die Stämme wurden in CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose (A) bzw. 222 mM Glucose + 15 g/l Trypton (B) in Serumflaschen kultiviert. Der Mittelwert und die Standardabweichung von jeweils drei biologisch unabhängigen Kultivierungen sind dargestellt.

Tabelle 11: Biotrockenmasse, Glucoseverbrauch und Succinat-, Lactat- und Acetatkonzentrationen im Überstand nach 46 h anaerober Kultivierung von *C. glutamicum* Wildtyp, *C. glutamicum* ΔF_1F_0 und *C. glutamicum* AtpG-S273P in CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose mit und ohne 15 g/l Trypton.

Stamm <i>C. glutamicum</i>	Trypton	Biotrocken- masse (g/l)	Glucose- verbrauch (mM)	Produkte (mM)		
				Succinat	Lactat	Acetat
Wildtyp	-	0,52 \pm 0,01	24,8 \pm 4,8	9,0 \pm 0,5	26,6 \pm 9,6	10,4 \pm 8,0
AtpG-S273P	-	0,92 \pm 0,00	94,4 \pm 19,2	10,7 \pm 0,1	31,6 \pm 1,3	2,9 \pm 0,1
ΔF_1F_0	-	0,85 \pm 0,01	41,6 \pm 7,5	18,3 \pm 0,7	42,4 \pm 1,3	5,3 \pm 0,2
Wildtyp	+	2,93 \pm 0,04	103,4 \pm 18,1	29,6 \pm 0,3	175,1 \pm 2,6	7,0 \pm 5,0
AtpG-S273P	+	1,81 \pm 0,05	79,1 \pm 4,7	26,7 \pm 1,2	93,2 \pm 4,2	0,0
ΔF_1F_0	+	1,52 \pm 0,15	51,9 \pm 8,3	27,8 \pm 4,1	87,2 \pm 13,0	0,0

5.6 Bestimmung des pH-Toleranzbereichs und Untersuchung der pH-Homöostase von anaerob kultivierten *C. glutamicum*-Zellen

In Vorversuchen wurde festgestellt, dass *C. glutamicum* unter anaeroben Bedingungen sehr sensibel auf seine eigene Säurebildung reagiert und das Wachstum einstellt. Um diesen Sachverhalt näher zu untersuchen, wurden Wachstumsversuche mit *C. glutamicum* Wildtyp im Bioreaktor bei konstanten pH-Werten in MOPS-freiem CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose (pH 6,0, 6,5, 7,0, 7,5 und 8,0) und mit 222 mM Glucose + 15 g/l Trypton (pH 5,5, 6,0, 6,5, 7,0, 7,5, 8,0 und 8,5) durchgeführt.

In Medium ohne Trypton wuchsen die Zellen bei einem pH-Wert von 6,0 gar nicht (Abbildung 15A). Bei pH 6,5 wuchsen die Zellen zwar, jedoch nahm die OD₆₀₀ nach 19 h wieder ab. Das beste Wachstum wurde mit einem pH-Wert von 7,5 erreicht, bei dem die Zellen ca. 72 h wuchsen und die OD₆₀₀ danach mindestens 48 h konstant blieb. Bei pH 8 gab es zunächst eine lag-Phase von ca. 19 h, bevor es ein minimales Wachstum gab.

Mit Trypton im Medium wuchsen die Zellen schneller und erreichten wie erwartet eine höhere maximale OD₆₀₀ als ohne Trypton bei gleichen pH-Werten. Auch mit Trypton wurde die höchste maximale OD₆₀₀ bei einem pH von 7,5, was dem intrazellulären aeroben pH-Wert entspricht, erreicht (Follmann *et al.*, 2009b). Im Unterschied zu Medium ohne Trypton konnten die Zellen mit Trypton bei pH 6,0 wachsen, auch bei pH 5,5 war noch minimales Wachstum festzustellen. Auch im alkalischen Bereich wirkte sich Trypton positiv

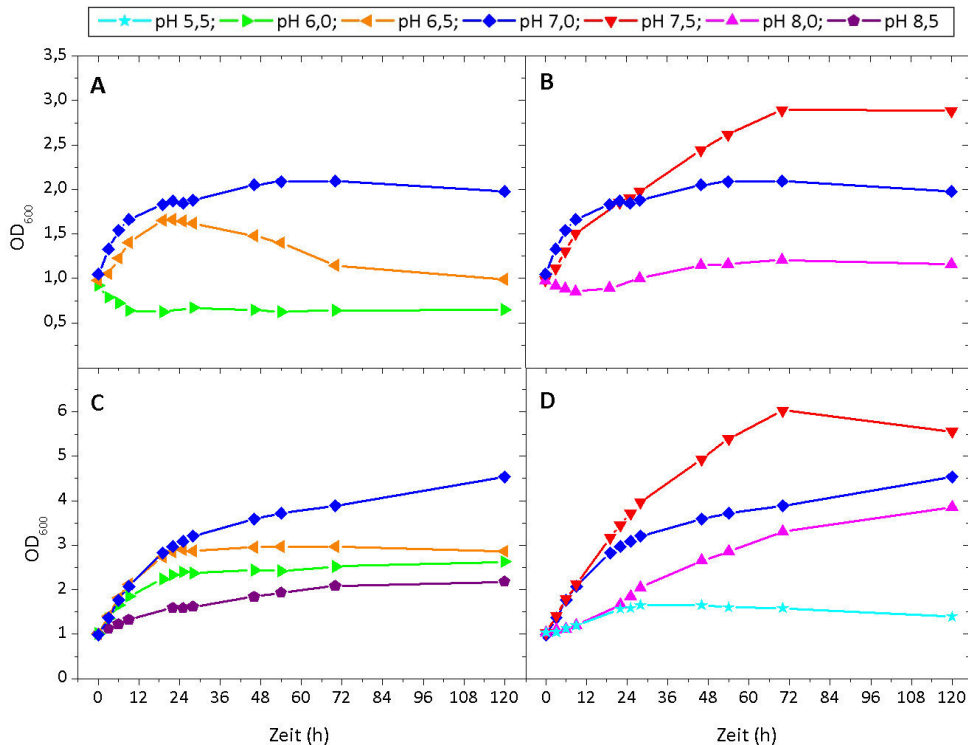


Abbildung 15: pH-Abhängigkeit des anaeroben Wachstums von *C. glutamicum* Wildtyp in MOPS-freiem CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose im Bioreaktor, (A und B) ohne Trypton, (C und D) mit 15 g/l Trypton. Der pH-Wert wurde durch Zugabe von Kaliumhydroxid bzw. Salzsäure bei den angegebenen Werten konstant gehalten. Der Mittelwert von mindestens zwei biologischen unabhängigen Kultivierungen ist dargestellt.

auf das Wachstum aus. Die lag-Phase bei pH 8,0 war auf 3 h minimiert und die Zellen konnten über 120 h wachsen. Auch bei pH 8,5 war noch Wachstum feststellbar. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der pH-Toleranzbereich für das Wachstum von *C. glutamicum* unter anaeroben Bedingungen mit Glucose sehr gering ist (pH 6,5 – 8,0) und Trypton einen positiven Einfluss hat und ihn etwas vergrößert (pH 5,5 – 8,5).

Um zu analysieren, wie sich der extrazelluläre pH-Wert auf den intrazellulären pH-Wert unter anaeroben Bedingungen auswirkt und was für eine Rolle Trypton dabei spielt, wurden die folgenden Experimente im Labor von Prof. Krämer, Universität Köln unter Anleitung von Katja Kirsch durchgeführt. Die verwendete Methode wurde in der Arbeitsgruppe von Prof. Krämer etabliert. Zur Messung des intrazellulären pH-Werts wurde *C. glutamicum* mit dem Plasmid pEKEx2_pHluorin transformiert. pHluorin ist eine pH-sensitive Variante des GFP, mit

der der intrazelluläre pH-Wert bestimmt werden kann (siehe Material und Methoden, (Miesenböck *et al.*, 1998)). Der intrazelluläre pH-Wert wurde über insgesamt 60 min aufgezeichnet. In Abbildung 16 ist zu sehen, dass die Zellen unter anaeroben Bedingungen pH-Homöostase betreiben. Bei einem Shift auf pH 8,0 wird der intrazelluläre pH in Medium mit Trypton konstant gehalten, in Medium ohne Trypton steigt er leicht an. Bei einem Shift auf pH 6,5 und 7,0 sinkt der intrazelluläre pH-Wert in Medium ohne Trypton stärker ab als in Medium mit Trypton. Bei einem Shift auf pH 6,0 wird das Detektionsminimum von pHluorin (pH_i 6,1) erreicht. Es ist jedoch zu sehen, dass die pH-Homöostase in Medium mit Trypton schneller erfolgte als in Medium ohne Trypton. Hierzu wurden der Mittelwert und die Standardabweichung des minimalen (pH_{i_min}) und des durchschnittlich maximalen ($pH_{i_Ømax}$) intrazellulären pHs ermittelt (Tabelle 11). Der pH_{i_min} ist sowohl in Medium ohne als auch in Medium mit Trypton geringer, je niedriger der extrazelluläre pH (pH_e) nach dem Shift ist. Auch lässt sich eine Korrelation von pH_e und $pH_{i_Ømax}$ bestimmen. Je tiefer der pH_e desto tiefer der $pH_{i_Ømax}$ (ohne und mit Trypton). Zum Beispiel liegt der $pH_{i_Ømax}$ bei $6,8 \pm 0,1$ bei einem pH_e von 6,5 und bei einem pH_e von 6,0 liegt der $pH_{i_Ømax}$ bei $6,4 \pm 0,0$ (ohne Trypton). Um die Schnelligkeit der pH-Homöostase zu bestimmen wurde Δt berechnet (Tabelle 12). Δt ist die Zeit, die der intrazelluläre pH braucht bis er nach dem Shift den durchschnittlich maximalen intrazellulären pH erreicht. Je größer der Shift desto länger braucht die pH-Homöostase um zu einem konstanten $pH_{i_Ømax}$ zu gelangen.

Werden die intrazellulären pH-Werte ($pH_{i_Ømax}$) mit denen in der Literatur (*C. glutamicum* Wildtyp, aerobe Bedingungen, 20 ml Minimalmedium, Schüttelkolben) verglichen, fällt auf, dass bei einem extrazellulären pH von 7,5 der intrazelluläre pH unter anaeroben Bedingungen pH 7,1 und unter aeroben Bedingungen ca. 7,5 beträgt. Bei einem extrazellulären pH von 8,0 beträgt der intrazelluläre pH 7,2 unter anaeroben Bedingungen, was einer Erhöhung um 0,1 pH-Einheiten entspricht und unter aeroben Bedingungen beträgt er ca. 7,9, was einer Erhöhung um 0,4 pH-Einheiten entspricht. Somit kann der intrazelluläre pH unter anaeroben Bedingungen besser aufrecht erhalten werden kann als unter aeroben Bedingungen. Bei sauren extrazellulären pH-Werten kann der intrazelluläre pH unter anaeroben Bedingungen schlechter aufrecht erhalten werden als unter aeroben. So beträgt zum Beispiel der interzelluläre pH unter anaeroben Bedingungen 6,4 und unter aeroben Bedingungen ca. 7,0 bei einem extrazellulären pH von 6,0.

Mit den hier durchgeführten Versuchen konnte gezeigt werden, dass *C. glutamicum* in der Lage ist pH-Homöostase unter anaeroben Bedingungen zu betreiben, trotzdem die Protonentranslokation stark eingeschränkt ist. In der anaeroben Zelle können zwei Mechanismen, zum Transport von Protonen aus der Zelle, zur Anwendung kommen. Zum einen können die Zellen mit einer Typ-II NADH-Dehydrogenase (Ndh) Elektronen von NADH zu Menachinon (MK) transferieren. Um den MKH₂-Pool wieder zu regenerieren, koppelt die Succinat:Menachinon-Oxidoreduktase (Sdh) die Menachinonoxidation mit der Reduktion von Fumarat. Dabei werden zwei Protonen über die Membran nach außen transferiert. Zum anderen ist es möglich, dass die F₁F₀-ATP-Synthase eine Rolle. Dies wird im Folgenden näher untersucht und beschrieben.

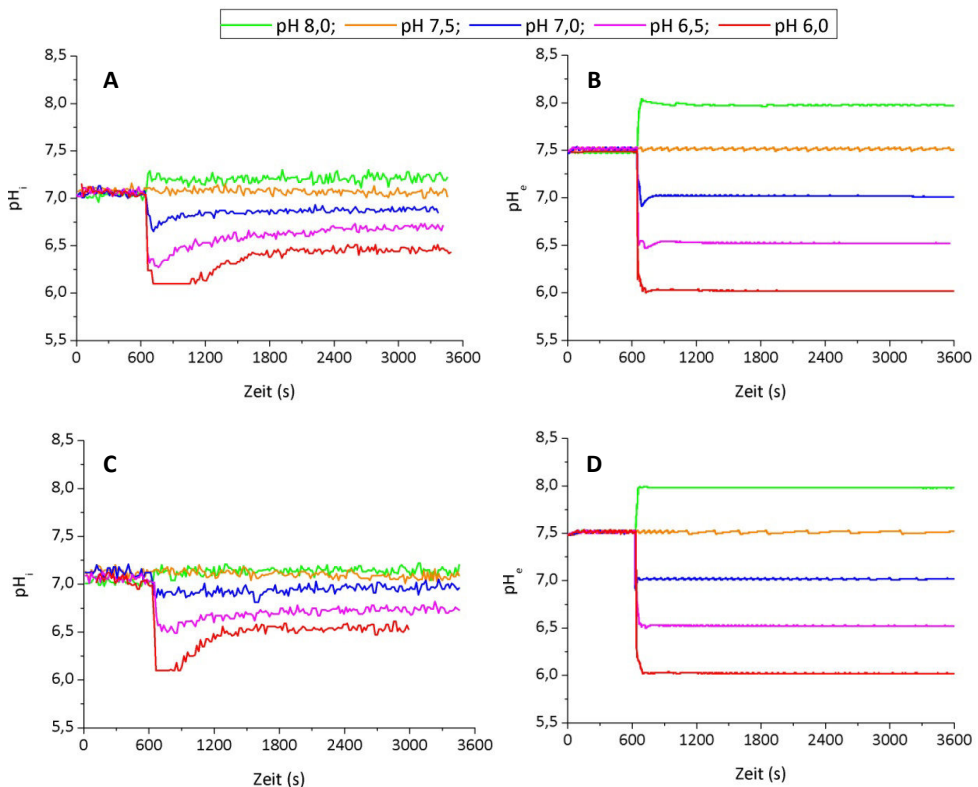


Abbildung 16: (A) Intrazellulärer, (B) extrazellulärer pH von *C. glutamicum* pEKEx2_pHluorin-Zellen in CGXII-Minimalmedium ohne Trypton unter anaeroben Bedingungen. (C) Intrazellulärer, (D) extrazellulärer pH von *C. glutamicum* pEKEx2_pHluorin-Zellen in CGXII-Minimalmedium mit Trypton unter anaeroben Bedingungen. Die Zellen wurden in CGXII-Minimalmedium (ohne MOPS) + 222 mM Glucose + 0,2 mM IPTG in das Messgerät überführt und 10 min bei pH 7,5 und 30 °C unter anaeroben Bedingungen konditioniert. Danach wurden die Zellen einem Shift zu dem gewünschten extrazellulären pH-Wert ausgesetzt. Dieser wurde von Hand durch schnelle Zugabe von einer 1 M KH₂PO₄- oder einer 1 M K₂HPO₄-Lösung eingestellt. Alle Messungen wurden 3-mal wiederholt und führten zu vergleichbaren Resultaten. Exemplarisch ist der pH-Verlauf von jeweils einer Messung dargestellt.

Tabelle 12: Minimaler (pH_{i_min}) und durchschnittlicher maximaler intrazellulärer pH ($pH_{i_Ømax}$) nach dem Shift von pH 7,5 zu angegebenen extrazellulären pH (pH_e). Δt (s): Zeit vom Shift bis zum Erreichen des durchschnittlichen maximalen intrazellulären pH. Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichungen aus drei Replikaten.

pH_e		pH_{i_min}	$pH_{i_Ømax}$	Δt (s)
ohne Trypton				
8,0	anaerob	$7,2 \pm 0,1$	$7,2 \pm 0,1$	0
7,5	"	$7,1 \pm 0,0$	$7,1 \pm 0,0$	0
7,0	"	$6,7 \pm 0,1$	$6,9 \pm 0,0$	245 ± 129
6,5	"	$6,6 \pm 0,1$	$6,8 \pm 0,1$	365 ± 103
6,0	"	< 6,1	$6,4 \pm 0,0$	1288 ± 232
6,0	aerob	$6,1 \pm 0,0$	$6,7 \pm 0,1$	707 ± 69
mit Trypton				
8,0	anaerob	$7,2 \pm 0,1$	$7,1 \pm 0,0$	0
7,5	"	$7,1 \pm 0,0$	$7,1 \pm 0,0$	0
7,0	"	$6,7 \pm 0,1$	$6,9 \pm 0,1$	308 ± 195
6,5	"	$6,5 \pm 0,1$	$6,7 \pm 0,0$	593 ± 277
6,0	"	< 6,1	$6,5 \pm 0,1$	1015 ± 303
6,0	aerob	$6,1 \pm 0,0$	$6,7 \pm 0,1$	553 ± 79

Um die pH-Homöostase unter aeroben und anaeroben Bedingungen vergleichen zu können wurden *C. glutamicum* pEKEx2_pHluorin-Zellen unter aeroben Bedingungen in Medium mit und ohne Trypton einem Shift von pH 7,5 zu 6,0 ausgesetzt (Abbildung 17). Im Vergleich zu anaeroben Bedingungen verläuft die pH-Homöostase unter aeroben Bedingungen viel schneller und der maximal erreichte intrazelluläre pH nach dem Shift ist höher. Die erhaltenen intrazellulären pH-Werte ($pH_{i_Ømax}$) von 6,7 unter aeroben Bedingungen sind vergleichbar mit dem pH von ca. 7,0, der unter aeroben Bedingungen bei einem externen pH von 6,0 gemessen wurde (Follmann *et al.*, 2009b). Ebenso ist festzustellen, dass Trypton keinen Effekt auf die pH-Homöostase unter aeroben Bedingungen hat.

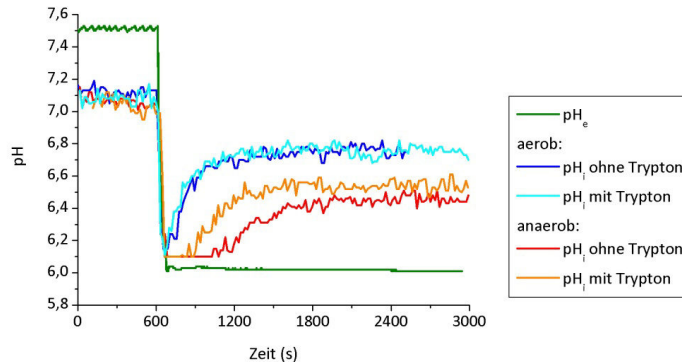


Abbildung 17: Intrazellulärer und extrazellulärer pH von *C. glutamicum* pEKEx2_pHluorin-Zellen in CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose und mit bzw. ohne 15 g/l Trypton unter aeroben und anaeroben Bedingungen. Alle Messungen wurden 3-mal wiederholt und führten zu vergleichbaren Resultaten. Exemplarisch ist der pH-Verlauf von jeweils einer Messung dargestellt.

5.7 Abhängigkeit der Fettsäure- und Mycolsäurebiosynthese und der anaplerotischen Reaktionen von Kohlenstoffdioxid in anaeroben *C. glutamicum*-Zellen

Im Zuge der Experimente wurde festgestellt, dass *C. glutamicum* Wildtyp in CGXII-Glucoseminimalmedium mit Trypton unter anaeroben Bedingungen in Serumflaschen eine höhere OD_{600} erreicht ($OD_{600} = 12$) als im Bioreaktor ($OD_{600} = 6$) (Abbildung 9D und 15). Vergleicht man diese beiden Kultivierungssysteme, zeigen sich viele Unterschiede. Der größte Unterschied liegt in der Begasung des Bioreaktors. Im Gegensatz zu dem Medium in den Serumflaschen wird das Medium im Bioreaktor konstant mit 0,3 l/min Stickstoff begast, um die anaeroben Bedingungen aufrecht zu erhalten. Möglicherweise wird dabei gebildetes Kohlenstoffdioxid ausgetragen und die Zellen haben nicht mehr genug CO_2 für die anaplerotischen Reaktionen und die Fettsäurebiosynthese. Um dies zu überprüfen, wurde *C. glutamicum* Wildtyp unter anaeroben Bedingungen im Bioreaktor mit verschiedenen Verhältnissen von N_2 und CO_2 kultiviert (Abbildung 18). Ohne Begasung mit CO_2 erreichten die Zellen eine maximale OD_{600} von 6. Die Begasung mit nur 1% CO_2 führte schon zu einer starken Steigerung der Biomassebildung ($OD_{600} = 8,5$). Das beste Wachstum konnte mit 10% CO_2 beobachtet werden. Unter diesen Bedingungen erreichten die Zellen eine Wachstumsrate von $\mu = 0,14$ 1/h und eine maximale OD_{600} von 12,7. Eine noch höhere CO_2 -Begasung (15 %) führte zu keiner höheren optischen Dichte (Daten nicht gezeigt).

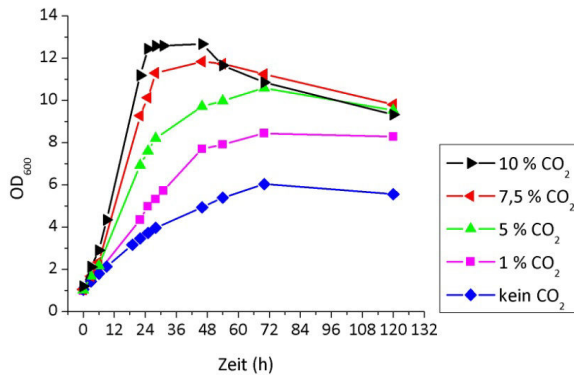


Abbildung 18: Einfluss von CO₂ auf das anaerobe Wachstum von *C. glutamicum*. *C. glutamicum* Wildtyp wurde in MOPS-freiem CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose und 15 g/l Trypton im Bioreaktor kultiviert. Der Bioreaktor wurde mit einem Gasmischung, bestehend aus N₂ und den angegebenen CO₂ Konzentrationen, begast (0,3 l/min). Es sind Mittelwerte von jeweils drei unabhängigen Kultivierungen dargestellt.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen im Bioreaktor konnte in Serumflaschen durch Zugabe von 25 mM, 50 mM oder 100 mM Natriumbicarbonat zum CGXII-Glucoseminimalmedium mit Trypton keine höheren End-ODs von *C. glutamicum* erreicht werden. Die Zellen wuchsen schneller mit Bicarbonat ($\mu = 0,13$ 1/h mit mindestens 50 mM Bicarbonat) im Vergleich zu ohne Bicarbonat ($\mu = 0,10$ 1/h), jedoch erreichten sie nicht die gleiche maximale OD₆₀₀ wie Zellen, die ohne Bicarbonat kultiviert worden sind (Abbildung 19). Das schnellere Wachstum wird durch die Bereitstellung von Bicarbonat, das bei den anaplerotischen Reaktionen oder bei der Fettsäure- und Mycolsäurebiosynthese fixiert werden kann, hervorgerufen. Der pH des Mediums mit Bicarbonat fällt während des Wachstums schneller als der pH des Mediums ohne Bicarbonat, verursacht durch das schnellere Wachstum. Durch den niedrigen pH des Medium in Kulturen mit Bicarbonat hören die Zellen früher auf zu wachsen und erreichen keine höhere optische Dichte.

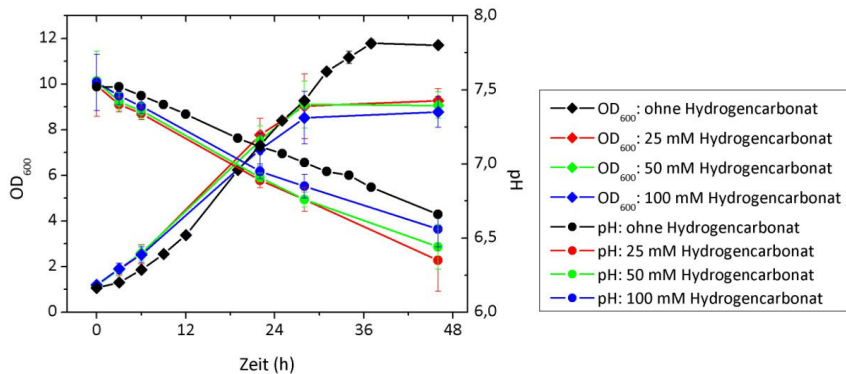


Abbildung 19: Einfluss von Hydrogencarbonat auf das anaerobe Wachstum von *C. glutamicum*. *C. glutamicum* Wildtyp wurde in CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose und 15 g/l Trypton in Serumflaschen kultiviert. Der Mittelwert und die Standardabweichung von jeweils drei biologisch unabhängigen Kultivierungen sind dargestellt.

5.8 Untersuchung der anaeroben Wachstumsinhibierung

In allen vorangegangenen anaeroben Kultivierungen mit geeigneten Kohlenstoffquellen konnte beobachtet werden, dass *C. glutamicum* aufhört zu wachsen, obwohl noch Kohlenstoffquelle vorhanden ist. Exemplarisch ist dieses Verhalten noch einmal in Abbildung 20 für *C. glutamicum* Wildtyp, der im Bioreaktor unter anaeroben Bedingungen bei einer Begasung mit 10% CO_2 kultiviert wurde, dargestellt. Obwohl die Zellen nicht mehr wachsen, ist *C. glutamicum* noch metabolisch aktiv. Wird das Wachstumsverhalten von *C. glutamicum* Wildtyp unter aeroben Bedingungen betrachtet, so wachsen die Zellen bis die Kohlenstoffquelle aufgebraucht ist. Mit Hilfe verschiedener Experimente sollte die Ursache für den Wachstumsstopp unter anaeroben Bedingungen identifiziert werden.

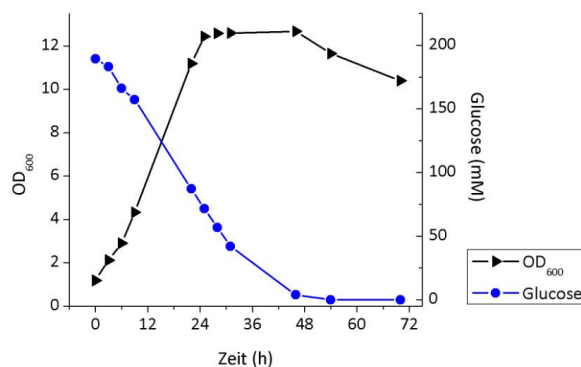


Abbildung 20: Anaerobes Wachstum und Glucoseverbrauch von *C. glutamicum* Wildtyp in MOPS-freiem CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose und 15 g/l Trypton im Bioreaktor (Begasung mit 0,3 l/min 90% N_2 /10% CO_2). Es sind Mittelwerte von drei Kultivierungen dargestellt.

5.8.1 Untersuchung des Wachstumsverhaltens von *C. glutamicum* Wildtyp bei einem Wechsel von anaeroben zu aeroben Bedingungen

Eine mögliche Ursache für den Wachstumsstopp ist, während der langen anaeroben Kultivierung können die Zellen ein Stoffwechselintermediat oder –produkt ohne Sauerstoff nicht abbauen, welches sich in hohen Konzentrationen toxisch auf die Zellen auswirkt und dadurch das Wachstum eingestellt wird. Um zu überprüfen, ob die Zellen irreparabel geschädigt werden, wurden *C. glutamicum* Wildtyp-Zellen in MOPS-freiem CGXII-Glucoseminimalmedium mit Trypton unter anaeroben Bedingungen im Bioreaktor mit einer Begasung von 0,3 l/min 90% N₂/10% CO₂ über 46 h kultiviert. Zu diesem Zeitpunkt wurde der Stickstoff gegen Luft getauscht (also 90% Luft/10% CO₂) und die OD₆₀₀ weiter verfolgt. Nach 31 h Kultivierung, also noch in der anaeroben Phase, wurde ein Glucosepuls (ca. 100 mM im Medium) gegeben, damit den Zellen in der aeroben Phase genügend Glucose zum Wachstum zur Verfügung stand.

Nach dem Wechsel von anaeroben zu aeroben Bedingungen fingen die Zellen sofort wieder an zu wachsen und erreichten eine maximale OD₆₀₀ von 60 (Abbildung 21A). Unter aeroben Bedingungen verstoffwechselten die Zellen hauptsächlich die Glucose, jedoch parallel auch Lactat und Succinat, das unter anaeroben Bedingungen gebildet worden war. Nach ca. 67 h war die Glucose aufgebraucht und es wurde nun hauptsächlich das Lactat verstoffwechselt. Die Acetat-Konzentration nahm nach dem Wechsel zu aeroben Bedingungen etwas zu und sank später unter 3 mM (Abbildung 21B). Das Resultat dieses Experiments deutet darauf hin, dass die Zellen während der anaeroben Kultivierung nicht geschädigt wurden. Zumindest war ein Großteil der Zellen fähig, das aerobe Wachstum wieder aufzunehmen.

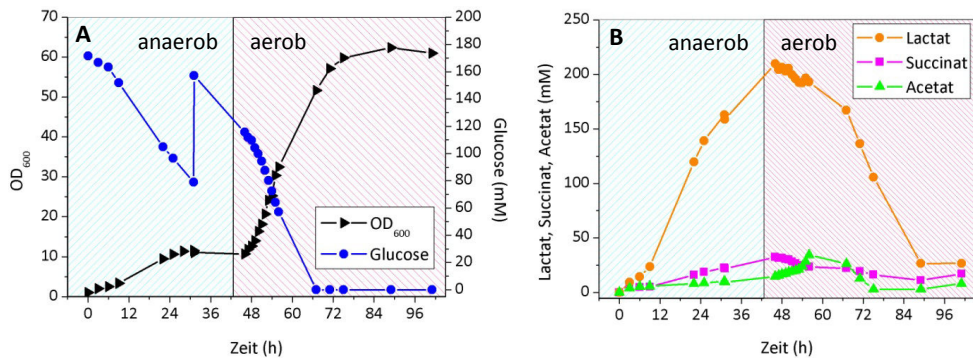


Abbildung 21: Kultivierung von *C. glutamicum* Wildtyp in MOPS-freiem CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose und 15 g/l Trypton im Bioreaktor (0,3 l/min 90% N₂/10% CO₂). Nach 46 h wurde der Stickstoff gegen Luft getauscht (0,3 l/min 90% Luft/10% CO₂). (A) Wachstum und Glucoseverbrauch, (B) Lactat-, Succinat- und Acetatkonzentration im Überstand. Das Experiment wurde 3-mal wiederholt und führte zu vergleichbaren Resultaten. Exemplarisch ist eine Kultivierung dargestellt.

Es ist auch vorstellbar, dass die Zellen im Laufe des anaeroben Wachstums ein Stoffwechselprodukt ins Medium abgeben, das ohne Sauerstoff nicht abgebaut werden kann und das das Wachstum inhibiert. Daher wurde der Kulturüberstand während der Kultivierung (Abbildung 21) mit Hilfe der GC-ToF-Massenspektrometrie analysiert (Jochem Gätgens, IBG-1, Forschungszentrum Jülich), wobei jedoch keine Hinweise auf ein möglicherweise toxisches Produkt erhalten wurden.

5.8.2 Wachstumsuntersuchung in Serumflaschen mit zellfreiem Mediumsüberstand von anaerob gewachsenen Bioreaktorkulturen

Kürzlich konnte gezeigt werden, dass das Wachstum von *C. glutamicum* Wildtyp in einem Picoliterbioreaktor in „gebrauchtem“ Medium (zellfreies Medium einer exponentiell gewachsenen Schüttelkolbenkultur) signifikant langsamer im Vergleich zum Wachstum in frischem Medium ist (Grünberger *et al.*, 2013). Daraus wurde geschlossen, dass das exponentielle Wachstumsverhalten von *C. glutamicum* vom einen vom Ausgangsmedium und vom anderen von den gebildeten Nebenprodukten abhängt. Für das anaerobe Wachstum könnte dies ebenfalls der Fall sein. Dazu wurde *C. glutamicum* Wildtyp zunächst im Bioreaktor in MOPS-freiem CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose + 15 g/l Trypton und 10% CO₂ bis zu einer OD₆₀₀ von ca. 12 kultiviert. Danach wurden die Zellen abzentrifugiert und das Medium steril filtriert. Das „gebrauchte“ Medium wurde in sterile

Serumflaschen überführt, mit Butylgummistopfen luftdicht verschlossen und für 30 min mit Stickstoff begast. Zur Reduktion des restlichen Sauerstoffs wurden nach dem Begasen 0,3 ml einer Cysteinlösung (60 g/l) zugegeben. Das anaerobe Medium wurde mit frisch kultivierten Zellen angeimpft. Ein Ansatz wurde mit 111 mM Glucose, 1 ml/l Spurensalzlösung, 0,2 mg/l Biotin, 30 mg/l Protokatechuat und 15 g/l Trypton supplementiert, um auszuschließen, dass eine dieser Komponenten in der vorherigen Kultivierung aufgebraucht worden ist.

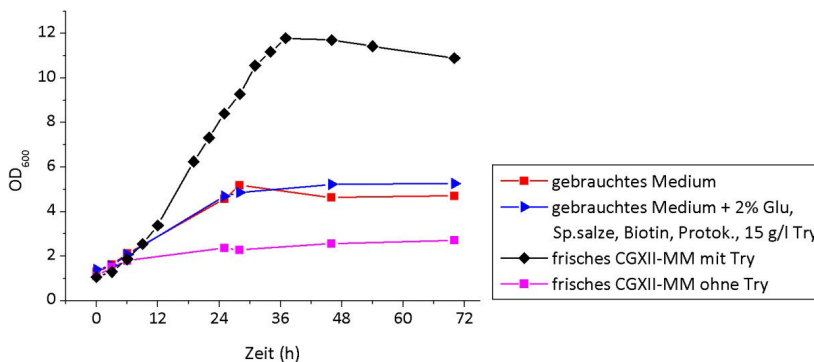


Abbildung 22: Anaerobes Wachstum von *C. glutamicum* Wildtyp in Serumflaschen in frischem CGXII-Minimalmedium mit und ohne Trypton und in „gebrauchtem“ CGXII-Minimalmedium mit und ohne Supplementierung von Glucose, Spurensalzen, Biotin, Protokatechuat und Trypton. Der Mittelwert von zwei Kultivierungen ist dargestellt.

In „gebrauchtem“ Medium wuchsen die Zellen besser ($OD_{600} = 5,2$) als in frischem Medium ohne Trypton ($OD_{600} = 2,2$), da sich in dem „gebrauchten“ Medium vermutlich noch signifikante Mengen an Trypton befanden. Die Zellen wuchsen jedoch schlechter als in frischem Medium mit Trypton ($OD_{600} = 11,8$). Die Zugabe von Glucose, Spurensalzen, Biotin, Protokatechuat und Trypton zum „gebrauchtem“ Medium hatte keinen Einfluss auf das Wachstum der Zellen (Abbildung 22). Möglicherweise befindet sich eine Substanz, die das Wachstum inhibiert, im „gebrauchten“ Medium oder es ist eine Substanz aufgebraucht, die sich in frischem Medium befindet (ausgeschlossen: Glucose, Spurensalze/Biotin/Protokatechuat und Trypton). Dies ist jedoch sehr unwahrscheinlich ist, da alle CGXII-Bestandteile, wie Ammoniumsulfat, Harnstoff, Magnesiumsulfat oder Calciumchlorid, die *C. glutamicum* zum Wachstum benötigt, im Medium im Überschuss vorliegen. Es ist wahrscheinlicher, dass die Zellen im Bioreaktor aufhören zu wachsen, weil das Wachstum von einem Stoffwechselprodukt, das ins Medium sekretiert wird, inhibiert wird.

5.8.3 Einfluss der Gärprodukte auf das anaerobe Wachstum

Da *C. glutamicum* Wildtyp große Mengen an Lactat, Succinat und Acetat während des anaeroben Wachstums produziert, ist es möglich, dass eine dieser organischen Säuren ab einer bestimmten Konzentration zum Wachstumsstopp führt. Um dies zu überprüfen, wurden *C. glutamicum* Wildtyp-Zellen im Bioreaktor in CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose, 15 g/l Trypton und 10% CO₂ kultiviert. Außerdem wurden dem Medium 130 mM Na-Lactat, 30 mM Na-Succinat und 8 mM Na-Acetat zugegeben. Diese Konzentrationen entsprechen denen, bei denen *C. glutamicum* aufhört zu wachsen (Abbildung 23). Die Zellen wiesen in den ersten 6 h eine Wachstumsrate von 0,09 1/h auf, während Zellen ohne supplementierte organische Säuren eine Wachstumsrate von 0,14 1/h zeigten. Sie produzierten weiterhin Lactat, Succinat und Acetat. Außerdem erreichten die Zellen in Gegenwart der organischen Säuren nur eine maximale OD₆₀₀ von 9. Diese Resultate zeigen, dass die supplementierten organischen Säuren das anaerobe Wachstum, d.h. die Wachstumsrate sowie die maximal erreichbare optische Dichte, von *C. glutamicum* negativ beeinflussen, jedoch verursachen die eingesetzten organischen Säuren keinen Wachstumsstopp.

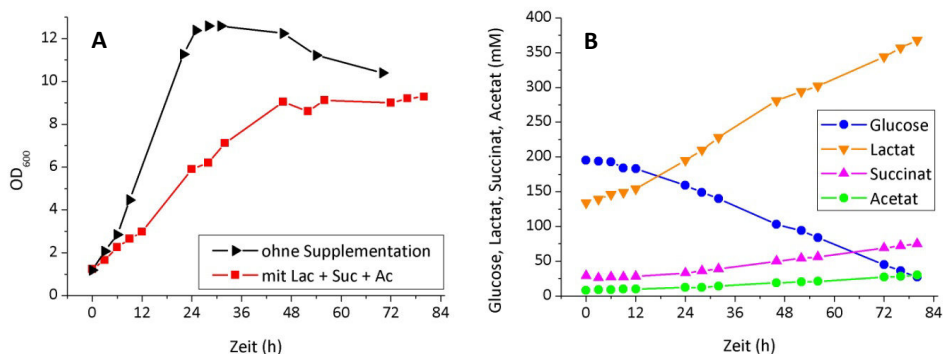


Abbildung 23: Kultivierung von *C. glutamicum* Wildtyp in MOPS-freiem CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose und 15 g/l Trypton im Bioreaktor. (A) Wachstum ohne und mit Supplementierung von 130 mM Lactat, 30 mM Succinat und 10 mM Acetat, (B) Glucoseverbrauch, Lactat-, Succinat- und Acetatproduktion von Zellen in CGXII-Minimalmedium mit Supplementierung.

5.8.4 Kultivierung von *C. glutamicum* $\Delta actA\Delta pqa\Delta pta-ackA$

Auf Grund verschiedener Veröffentlichungen (Grünberger *et al.*, 2013; Landwall und Holme, 1977; Luli und Strohl, 1990; Repaske und Adler, 1981) konnte vermutet werden, dass das während der Kultivierung gebildete Acetat das Wachstum inhibiert. Um dies zu bestätigen, wurde der Stamm *C. glutamicum* $\Delta actA\Delta pqa\Delta pta-ackA$ (Boris Litsanov, unveröffentlichte Arbeit), dessen acetatproduzierende Gene deletiert worden sind, im Bioreaktor unter den Standardbedingungen (600 ml MOPS-freies CGXII-Minimalmedium + 222 mM Glucose + 15 g/l Trypton; 90% N₂ + 10% CO₂) kultiviert. Im Stamm *C. glutamicum* $\Delta actA\Delta pqa\Delta pta-ackA$ wurden alle Gene deletiert, die acetatproduzierende Enzyme codieren. Acetat kann aus Acetyl-CoA von der Acetyl-CoA:CoA-Transferase (ActA) und der Phosphotransacetylase/Acetate-Kinase (Pta/AckA) synthetisiert werden oder aus Pyruvat von der Pyruvat:Menaquinon-Oxidoreduktase (Pqa). Jedoch sind dies nicht die einzigen Enzyme, die Acetat produzieren. Es müssen noch ein oder mehrere in *C. glutamicum* vorhanden sein, da die *C. glutamicum* $\Delta actA\Delta pqa\Delta pta-ackA$ -Mutante immer noch Acetat produziert (Litsanov *et al.*, 2012b). Die optische Dichte sowie der Glucoseverbrauch und die Gärproduktbildung wurden bestimmt.

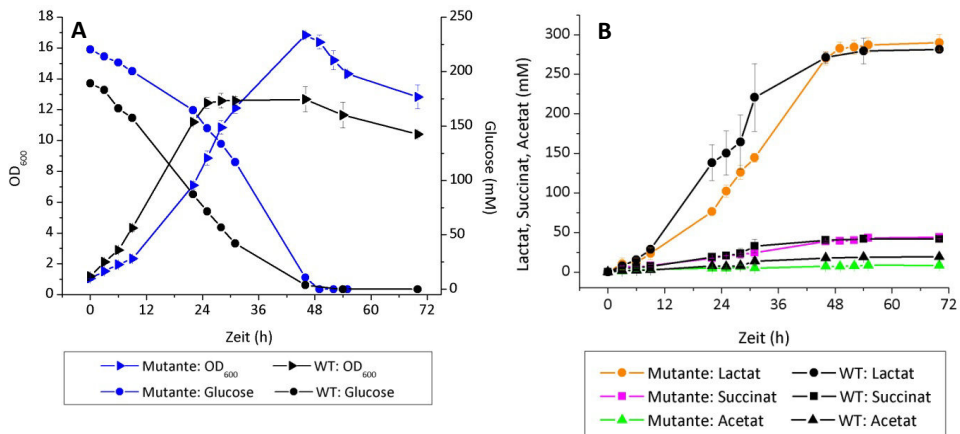


Abbildung 24: Anaerobe Kultivierung von *C. glutamicum* Wildtyp und *C. glutamicum* $\Delta actA\Delta pqa\Delta pta-ackA$ in MOPS-freiem CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose und 15 g/l Trypton im Bioreaktor bei Begasung mit 0,3 l/min 90% N₂/10% CO₂. (A) Optische Dichte und Glucoseverbrauch, (B) Lactat-, Succinat- und Acetatproduktion. Der Mittelwert und die Standardabweichung von jeweils drei biologisch unabhängigen Kultivierungen sind dargestellt.

Der Stamm *C. glutamicum* $\Delta actA\Delta pqo\Delta pta-ack$ wuchs langsamer als der Wildtyp, jedoch erreichte er mit 16,8 eine höhere maximale OD₆₀₀ als der Wildtyp (OD₆₀₀ = 11,8) (Abbildung 24A). Die Mutante hörte auf zu wachsen als die Glucose verbraucht war. Weiterführende Experimente haben jedoch gezeigt, dass die aufgebrauchte Glucose nicht für den Wachstumsstopp verantwortlich ist (Daten nicht gezeigt). Die Lactatproduktion von *C. glutamicum* $\Delta actA\Delta pqo\Delta pta-ack$ während des Wachstums verlief langsamer, was mit dem langsameren Wachstum zu erklären ist (Abbildung 24B). Betrachtet man die Endkonzentrationen pro BTM, so waren diese für Succinat bei der Mutante und dem Wildtyp etwa gleich (Mutante: $13,73 \pm 0,60$ mM/g BTM, Wildtyp: $15,84 \pm 1,09$ mM/g BTM) und die Lactatkonzentration war bei der Mutante geringer ($90,36 \pm 3,32$ mM/g BTM) als beim Wildtyp ($107,01 \pm 1,47$ mM/g BTM). Wie erwartet, war die Acetatkonzentration pro BTM im Überstand der Mutante geringer ($2,64 \pm 0,13$ mM/g BTM) als beim Wildtyp ($7,28 \pm 0,22$ mM/g BTM). Mit diesem Versuch konnte zum Einen gezeigt werden, dass auch unter anaeroben Bedingungen *C. glutamicum* $\Delta actA\Delta pqo\Delta pta-ackA$ weniger Acetat produziert als der Wildtyp und zum Anderen, dass die Acetatkonzentration bzw. -produktion einen starken Einfluss auf das anaerobe Wachstum von *C. glutamicum* hat.

5.8.5 Fortlaufende Überimpfung von *C. glutamicum* im Bioreaktor und Bestimmung der Zellgröße

Um zu zeigen, dass *C. glutamicum* Wildtyp anaerob wachsen kann solange Acetat nur in geringen Konzentrationen vorliegt, wurde ein Wachstumsexperiment, bei dem eine Zellkultur mehrmalig in frisches Medium überimpft worden ist, durchgeführt. Das heißt, es wurden Zellen im Bioreaktor in 600 ml MOPS-freiem CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose + 15 g/l Trypton bis zu einer OD₆₀₀ von 5 angezogen. In einem zweiten Bioreaktor wurden 540 ml CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose + 15 g/l Trypton vorgelegt und mit 60 ml der ersten Bioreaktorkultur inokuliert (Start-OD₆₀₀ dementsprechend 0,5). Nachdem die Zellen der zweiten Kultur wieder eine OD₆₀₀ von 5 erreicht hatten, wurde ein neuer Bioreaktor (540 ml CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose + 15 g/l Trypton) mit 60 ml Kultur aus Bioreaktor 2 angeimpft. Es wurden insgesamt sieben Überimpfungen durchgeführt. Alle Bioreaktoren wurden mit 0,3 l/min 90 % N₂ und 10 % CO₂ begast. Während des gesamten Experiments blieben die Zellen vermehrungsfähig und wuchsen mit

einer Wachstumsrate zwischen 0,09 und 0,13 1/h (Abbildung 25). Vermutlich adaptierten sich die Zellen an anaerobe Bedingungen, da sie nach der fünften Überimpfung schneller wuchsen als während der ersten vier Kultivierungen. Möglicherweise trat während der Kultivierung eine Spontanmutation auf. Um die genetische Basis dieser Adaptation zu ermitteln, ist eine Gensequenzierung erforderlich.

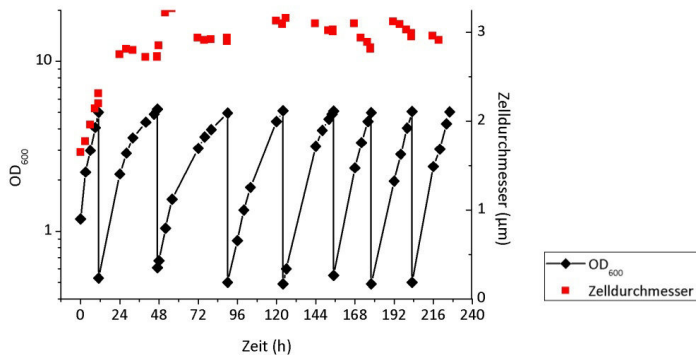


Abbildung 25: Fortlaufendes Überimpfungsexperiment mit *C. glutamicum*. *C. glutamicum* Wildtyp wurde anaerob in MOPS-freiem CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose und 15 g/l Trypton im Bioreaktor kultiviert. Nachdem die Zellen eine OD₆₀₀ von ca. 5 erreicht hatten, wurden 60 ml der Kultur in den nächsten Bioreaktor, der mit 540 ml frischen Medium bestückt war, überführt. Die optische Dichte und der Zelldurchmesser wurden bestimmt. Das Experiment wurde 3-mal wiederholt und führte zu vergleichbaren Resultaten. Exemplarisch ist eine Kultivierung dargestellt.

Während des fortlaufenden Überimpfungsexperiments wurde die Zellgröße mit Hilfe eines Multisizer™ 3 COULTER COUNTER® (Backman Coulter™) bestimmt, um zu zeigen, dass die Zunahme der optischen Dichte auf Zellteilung beruht, und nicht auf einer Vergrößerung der Zelle. In Abbildung 25 ist zu sehen, dass der Zelldurchmesser von anfänglich 1,65 µm auf 2,75 µm nach 24 h Kultivierung zunahm. Diese Vergrößerung beruhte vermutlich darauf, dass die Zellen aus einer Vorkultur stammten, die sich in der stationären Phase befand. Es ist bekannt, dass die Zellgröße sich verkleinert, sobald nicht mehr genügend Nährstoffe vorhanden sind (Allgemeinwissen aus der Arbeitsgruppe von Prof. Oldiges, Forschungszentrum Jülich). Wenn der Zelle dann wieder genügend Nährstoffe zur Verfügung stehen, nimmt die Zellgröße zu. Während der restlichen Kultivierung blieben die Zellen gleich groß ($2,86 \pm 0,40 \mu\text{m}$).

Dieses Ergebnis sollte mit Hilfe der Mikroskopie bestätigt werden. Es wurden Mikroskopaufnahmen von *C. glutamicum*-Zellen, die im Bioreaktor in MOPS-freiem CGXII-

Glucose-Minimalmedium mit 15 g/l Trypton und einer Begasung von 0,3 l/min mit 90% N₂ und 10% CO₂ kultiviert worden waren, angefertigt. In Abbildung 26 ist zu sehen, dass die Zellen eine für *Corynebacterium* typische keulenförmige Zellmorphologie aufwiesen. Viele Zellen waren, wie unter aerober Kultivierung, in Zweier- oder Dreier-„Paketen“ zusammengelagert. Wurden die Zellen am Anfang (A) sowie nach 9 h (B) Kultivierung verglichen, so war kein Unterschied zu erkennen. Erst nach 24 h Kultivierung (C) war die erwartete Zellvergrößerung sichtbar. Untersuchungen mit *C. glutamicum* R Wildtyp ergaben, dass die Zellen bei sauerstofffreier Kultivierung in Minimalmedium mit Nitrat als Elektronenakzeptor während der Wachstumsphase 2 bis 3 mal länger sind, als unter aeroben Bedingungen (Nishimura *et al.*, 2011).

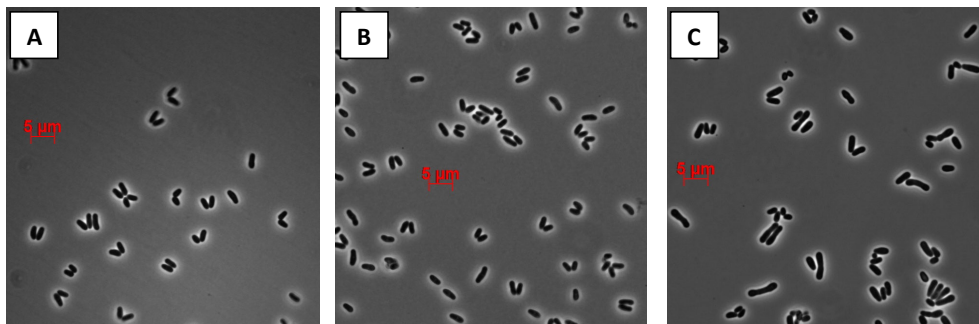


Abbildung 26: Mikroskopische Aufnahmen von *C. glutamicum* Wildtyp nach 3 h (A), 9 h (B) und 24 h (C) anaerober Kultivierung im Bioreaktor (MOPS-freies CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose und 15 g/l Trypton, 90% N₂ + 10% CO₂).

5.9 Zeitabhängiges Genexpressionsprofil von *C. glutamicum* während des Übergangs von aeroben zu anaeroben Bedingungen

Die genomweite, zeitliche Veränderung im Transkriptomprofil von *C. glutamicum* Wildtyp bei einem Wechsel von aeroben zu anaeroben Bedingungen wurde bis dato nicht untersucht. Mit Hilfe der DNA-Microarraytechnologie sollte die Anpassung an anaerobe Bedingungen auf Ebene der Genexpression analysiert werden. Weiterhin sollten mögliche Transkriptionsregulatoren, die an der Sauerstoff- und/oder Redoxdedektion sowie an der Anpassung des Metabolismus und der Atmung an anaerobe Bedingungen beteiligt sind, identifiziert werden. Hierfür wurden *C. glutamicum* Wildtyp-Zellen im Bioreaktor in MOPS-freiem CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose + 15 g/l Trypton bis zu einer OD₆₀₀ von 5 aerob (0,9 l/min 90% Luft + 10% CO₂) kultiviert. Bei einer OD₆₀₀ von 5 wurden Zellen aus 60

ml Kultur geerntet (t_0) und danach wurde die Luft gegen Stickstoff ausgetauscht. 10 Min, 30 min, 60 min und 120 min nach diesem Wechsel zu anaeroben Bedingungen wurden wieder Zellen aus 15 ml Kultur geerntet (Abbildung 27). Die Gesamt-RNA aus den verschiedenen Zellproben wurde isoliert und für vergleichende DNA-Microarray-Analysen eingesetzt, wobei jede der vier Proben, die nach dem Wechsel zu anaeroben Bedingungen isoliert wurden, mit der Probe verglichen wurde, die vor dem Wechsel genommen worden war. Für jeden Zeitpunkt wurden drei biologisch unabhängige DNA-Microarray-Experimente durchgeführt.

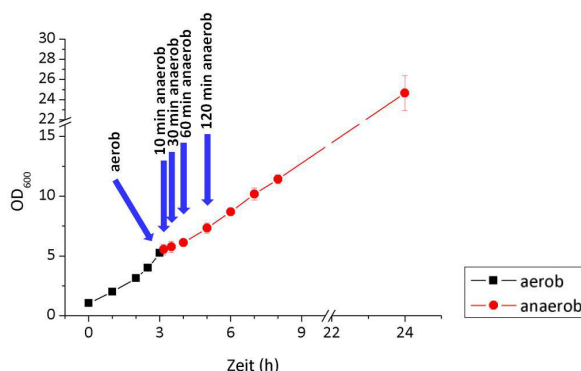


Abbildung 27: Wachstumsprofil von *C. glutamicum* Wildtyp im Bioreaktor in MOPS-freiem CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose + 15 g/l Trypton. Bis zu einer OD₆₀₀ von 5 wurde aerob (0,9 l/min: 90% Luft/10% CO₂) kultiviert, danach wurde unter anaeroben Bedingungen (0,9 l/min 90% N₂/10% CO₂) weiterkultiviert. Es wurde die Genexpression 10 min, 30 min, 60 min und 120 min nach dem Wechsel mit der Genexpression vor dem Wechsel verglichen. Die Zellerntezeitpunkte sind mit blauen Pfeilen markiert.

Das Genexpressionsprofil von *C. glutamicum* Wildtyp unterschied sich zwischen aerober Atmung und anaerober Fermentation. Die Anzahl der Gene, die nach dem Wechsel mindestens 2-fach verstärkt oder 2-fach abgeschwächt exprimiert wurden, ist in Tabelle 13 zusammengefasst.

Tabelle 13: Überblick über die Anzahl der regulierten Gene in *C. glutamicum* Wildtyp bei einem Wechsel von aeroben zu anaeroben Bedingungen.

	10 min anaerob	30 min anaerob	60 min anaerob	120 min anaerob
anaerob/aerob > 2	53	158	172	211
n ≥ 2; p ≤ 0,05				
anaerob/aerob < 0,5	187	217	257	150
n ≥ 2; p ≤ 0,05				

Der Fokus dieser Auswertung lag bei den Genen des Zentralstoffwechsels, der Atmungskette und der ATP-Synthase. In Abbildung 28 ist der Metabolismus mit den zugehörigen Genen und mRNA-Verhältnissen (10/30/60/120 min anaerob vs. aerob) von *C. glutamicum* dargestellt. Die Fluoreszenzverhältnisse wurden logarithmiert.

Der mRNA-Spiegel der meisten Glykolysegene war nach dem Wechsel zu anaeroben Bedingungen erhöht, außer bei *glk*, das für die Gluco-Kinase, und *ppgK*, das für die Polyphosphatgluco-Kinase codiert. Zwar nahm der mRNA-Spiegel der Gene *glk* und *ppgK* nach dem Wechsel zu anaeroben Bedingungen über die Zeit immer mehr zu, jedoch war er weitaus niedriger als unter aeroben Bedingungen. Der mRNA-Spiegel von dem Gluconeogenesegen *gapX*, das für die Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase codiert, war unter anaeroben Bedingungen erniedrigt. Inui *et al.* verglichen die Genexpression von aerob wachsenden *C. glutamicum* R Wildtyp-Zellen mit anaerob ruhenden Zellen (Inui *et al.*, 2007). Hierbei wurde festgestellt, dass die meisten Glykolysegene erniedrigt unter anaeroben nicht wachsenden Bedingungen transkribiert werden. Nur die Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase (*gapA*) und die Phosphoglycerat-Kinase (*pgk*) werden erhöht transkribiert. Dies liegt sicherlich daran, dass nicht wachsende Zellen die Transkription der Glykolysegene verlangsamen, da sie metabolisch nur gering aktiv sind und daher nicht viele Glykolyseenzyme benötigen. Nishimura *et al.* fertigten eine Genexpressionsanalyse mit *C. glutamicum* R Wildtyp-Zellen an, bei der sie aerob wachsende Zellen ohne Nitrat im Medium mit anaerob wachsenden Zellen mit Nitrat im Medium verglichen (Nishimura *et al.*, 2011). Die Daten von lediglich drei Glykolysegenen wurden veröffentlicht: Der mRNA-Spiegel von PtsG ist erniedrigt, die Spiegel von GapA und Pgc sind erhöht.

Die Verstoffwechselung der Glucose über den Pentosephosphatweg (PPP) generiert NADPH und Vorstufen für Biosynthesen. Im oxidativen Teil des PPP war der mRNA-Spiegel der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (*zwf*) unter anaeroben Bedingungen erniedrigt, derjenige der 6-Phosphoglucono-Lactonase (*pgl*) war nach 10 min erhöht, nach 30 min jedoch ebenfalls erniedrigt. Der mRNA-Spiegel der 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase (*gnd*) war nur geringfügig nach 30 min erhöht. Im nicht-oxidativen Teil des PPP war der mRNA-Spiegel der Ribose-5-phosphat-Isomerase (*rpi*) kurz nach dem Wechsel zu anaeroben Bedingungen stark erniedrigt, aber über die Zeit erhöhte er sich, bis er bei 120 min keinen veränderten Wert im Vergleich zu aeroben Bedingungen aufwies. Im Gegensatz hierzu war

der mRNA-Spiegel der Ribulosephosphat-Epimerase (*rpe*) am Anfang nicht verändert, wurde jedoch über die Zeit erhöht. Die mRNA-Spiegel der Transketolase (*tkt*) und der Transaldolase (*tal*) waren in den ersten 60 min nach dem Wechsel unterschiedlich: *tal* war erniedrigt und *tkt* war nach 10 min unverändert, nach 30 min erhöht. Die mRNA-Spiegel beider Gene waren jedoch nach 60 und 120 min 2-fach erhöht.

Unter anaeroben Bedingungen wird von der Lactat-Dehydrogenase (*ldhA*) Pyruvat in Lactat umgewandelt und dabei NAD^+ regeneriert. Wie erwartet steigt der mRNA-Spiegel von *ldhA* nach dem Wechsel zu anaeroben Bedingungen um das 16 bis 47-fache an. Auch bei Inui *et al.* und Nishimura *et al.* ist die Expression der LdhA um jeweils das 9-fach erhöht (Inui *et al.*, 2007; Nishimura *et al.*, 2011). Die Pyruvat:Menaquinon-Oxidoreduktase (*pqo*), katalysiert die oxidative Decarboxylierung von Pyruvat zu Acetat und CO_2 und überträgt dabei die Elektronen auf Menachinon. Direkt nach dem Wechsel zu anaeroben Bedingungen ist der mRNA-Spiegel von *pqo* erhöht und mit der Zeit erhöht er sich weiter.

Der mRNA-Spiegel des anaplerotischen Enzymes Pyruvatcarboxylase (*pyc*) ist nach dem Wechsel zu anaeroben Bedingungen erniedrigt, wohingegen die mRNA-Spiegel der Phosphoenolpyruvat-Carboxylase (*ppc*) und der Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase (*pck*) erhöht sind. Bei Inui *et al.* ist der mRNA-Spiegel von Pyc gleich, von Ppc erhöht und von Pck leicht erniedrigt (Inui *et al.*, 2007). Bei Nishimura *et al.* sind die Expressionen von *ppc* und *pck* erhöht (Nishimura *et al.*, 2011).

Die mRNA-Spiegel des TCA-Zyklus sind nach einem Wechsel von aeroben zu anaeroben Bedingungen sehr unterschiedlich: Der mRNA-Spiegel des Malat-Dehydrogenasegens (*mdh*) ist stark erhöht, der des Fumarathydratasegens (*fumC*) ist erst nach 60 min erhöht und der der Succinat-Dehydrogenasegene (*sdhA*, *sdhB* und *sdhC*) sind nach 30 min erniedrigt. Der mRNA-Spiegel der Citrat-Synthase (*glta*) ist erniedrigt, der der Isocitrat-Dehydrogenase (*icd*) und der Dihydrolipoamid-Acetyl-Transferase (*aceF*) sind kurz nach dem Wechsel erniedrigt, jedoch nach 60 min erhöht. Genau anders herum verhält es sich mit den Succinyl-CoA-Synthetase (*sucC* und *sucD*). Werden die Genexpressionsprofile der TCA-Zyklusgene von aerob wachsenden mit anaerob nicht wachsenden Zellen verglichen so zeigt sich das gleiche Bild wie bei den Glycolysegenen, alle werden erniedrigt transkribiert, mit einer Ausnahme. Die Mdh wird um das 2,7-fache erhöht transkribiert (Inui *et al.*, 2007).

Nach der Umstellung zu anaeroben Bedingungen werden die Gene der *bd*-Oxidase (*cydAB*) leicht erhöht transkribiert, wobei nach 120 min unter anaeroben Bedingungen der mRNA-Spiegel ca. 2-fach erhöht ist (Tabelle 14). Inui et al. (Inui et al., 2007) bestimmten eine 5,7-fache (*cydB*) und 5,5-fach (*cydA*) Erhöhung der Transkriptmenge, Nishimura et al. (Nishimura et al., 2011) eine jeweils 2,7-fache Erhöhung. In der Literatur ist nichts über die Transkriptmenge der Gene des Cytochrom-*bc*₁-*aa*₃-Superkomplexes bekannt. Bei den Untersuchungen, die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt wurden, wurden diese Gene (*qcrCAB*, *ctaD*, *ctaC*, *ctaF* und *ctaE*) im Allgemeinen erniedrigt transkribiert vorgefunden (Tabelle 14).

Tabelle 14: mRNA-Verhältnis der Gene der *bd*-Oxidase (*cydAB*) und des Cytochrom-*bc*₁-*aa*₃-Superkomplexes (*qcrBAC*, *ctaEFC*) von *C. glutamicum* 10 min, 30 min, 60 min und 120 min anaeroben vs. aeroben Bedingungen. Der Durchschnitt der mRNA-Verhältnisse wurde mit n Replikaten errechnet.

cg-Nr.	Gen	Annotation	10 min anaerob vs. aerob			30 min anaerob vs. aerob			60 min anaerob vs. aerob			120 min anaerob vs. aerob		
			Durchschnitt	n	p-value	Durchschnitt	n	p-value	Durchschnitt	n	p-value	Durchschnitt	n	p-value
cg1300	<i>cydB</i>	Cytochrom- <i>bd</i> -Oxidase, Untereinheit 2	1,185	3	0,100	1,211	2	0,259	1,901	2	0,249	2,089	2	0,116
cg1301	<i>cydA</i>	Cytochrom- <i>bd</i> -Oxidase, Untereinheit 1	1,033	3	0,331	1,038	2	0,284	1,093	2	0,444	2,158	2	0,102
cg2403	<i>qcrB</i>	Cytochrom- <i>bc</i> ₁ -Komplex, Cytochrom- <i>b</i> -Untereinheit	1,711	3	0,060	0,548	3	0,127	0,475	3	0,018	0,528	3	0,063
cg2404	<i>qcrA</i>	Cytochrom- <i>bc</i> ₁ -Komplex, Rieske Eisen-Schwefel-Protein	1,214	3	0,242	0,411	3	0,080	0,476	3	0,015	0,442	3	0,028
cg2405	<i>qcrC</i>	Cytochrom- <i>bc</i> ₁ -Komplex, Diheme Cytochrom- <i>c</i> ₁ Untereinheit	0,834	3	0,486	0,430	3	0,177	0,582	3	0,104	0,435	3	0,100
cg2406	<i>ctaE</i>	Cytochrom- <i>aa</i> ₃ -Oxidase, Untereinheit 3	0,756	3	0,378	0,485	3	0,175	0,522	3	0,145	0,563	3	0,164
cg2408	<i>ctaF</i>	Cytochrom- <i>aa</i> ₃ -Oxidase, Untereinheit 4	0,426	2	0,223	0,032	1		0,215	2	0,187	0,153	2	0,201
cg2409	<i>ctaC</i>	Cytochrom- <i>aa</i> ₃ -Oxidase, Untereinheit 2	0,418	3	0,009	0,153	3	0,021	0,180	3	0,033	0,269	3	0,046
cg2780	<i>ctaD</i>	Cytochrom- <i>aa</i> ₃ -Oxidase, Untereinheit 1	0,901	3	0,446	0,291	3	0,023	0,389	3	0,084	0,588	3	0,170

Die Transkriptmengen der Gene der F₁F_o-Synthase (*atpBEFHAGDC*) sind nach 10 min unter anaeroben Bedingungen zwischen dem 1,2 und 2,1-fachem erhöht gegenüber aeroben Bedingungen (Tabelle 15). Dies ändert sich, nach 30 min unter anaeroben Bedingungen sind die Transkriptmengen um das 0,7 bis 0,3-fache erniedrigt. Diese geringen Transkriptmengen

wurden auch nach 60 und 120 min unter anaeroben Bedingungen festgestellt. Von einer erniedrigten (0,6 bis 0,3-fache) Transkriptmenge der Gene der F₁F_o-Synthase unter anaeroben Bedingungen wird auch in der Literatur berichtet (Inui *et al.*, 2007).

Tabelle 15: mRNA-Verhältnis der Gene der F₁F_o-Synthase (*atpBEFHAGDC*) von *C. glutamicum* 10 min, 30 min, 60 min und 120 min anaeroben vs. aeroben Bedingungen. Der Durchschnitt der mRNA-Verhältnisse wurde mit n Replikaten errechnet.

cg-Nr.	Gen	Annotation	10 min anaerob vs. aerob			30 min anaerob vs. aerob			60 min anaerob vs. aerob			120 min anaerob vs. aerob		
			Durchschnitt	n	p-value	Durchschnitt	n	p-value	Durchschnitt	n	p-value	Durchschnitt	n	p-value
cg1362	<i>atpB</i>	F ₁ F _o -ATP-Synthase, a Untereinheit des F _o -Teils	1,302	3	0,251	0,498	3	0,138	0,376	3	0,121	0,563	3	0,252
cg1363	<i>atpE</i>	F ₁ F _o -ATP-Synthase, c Untereinheit des F _o -Teils	1,308	3	0,320	0,347	3	0,111	0,457	3	0,210	0,549	3	0,287
cg1364	<i>atpF</i>	F ₁ F _o -ATP-Synthase, b Untereinheit des F _o -Teils	1,754	3	0,187	0,549	3	0,305	0,392	3	0,236	0,721	3	0,414
cg1365	<i>atpH</i>	F ₁ F _o -ATP-Synthase, delta Untereinheit des F ₁ -Teils	1,230	3	0,333	0,336	3	0,109	0,429	3	0,152	0,482	3	0,223
cg1366	<i>atpA</i>	F ₁ F _o -ATP-Synthase, alpha Untereinheit des F ₁ -Teils	1,842	3	0,216	0,456	3	0,215	0,428	3	0,200	0,463	3	0,215
cg1367	<i>atpG</i>	F ₁ F _o -ATP-Synthase, gamma Untereinheit des F ₁ -Teils	1,734	3	0,202	0,495	3	0,207	0,328	3	0,111	0,427	3	0,130
cg1368	<i>atpD</i>	F ₁ F _o -ATP-Synthase, beta Untereinheit des F ₁ -Teils	2,143	3	0,038	0,681	3	0,306	0,371	3	0,121	0,393	3	0,128
cg1369	<i>atpC</i>	F ₁ F _o -ATP-Synthase, mepsilon Untereinheit des F ₁ -Teils	2,142	1		0,203	1		0,031	1		0,093	1	

Transkriptionsregulatoren

Um den Haupttranskriptionsregulator zu finden, der bei der Umstellung von aeroben zu anaeroben Bedingungen eine entscheidende Rolle spielt, wurde bei der Genexpressionsanalyse nach Transkriptionsregulatoren mit erhöhten bzw. erniedrigten Transkriptmengen gesucht. Es konnten insgesamt 30 Transkriptionsregulatoren identifiziert werden, davon 9, zu denen es bereits experimentelle Daten gibt, und 21, die bisher noch nicht analysiert wurden (Tabelle 16). Diese 30 Transkriptionsregulatoren wiesen mindestens zu einem der vier Zeitpunkte einen um mehr als 2-fach signifikant veränderten mRNA-Spiegel auf (p-value < 0,05 auf).

Im Folgenden werden Transkriptionsregulatoren und ein Zwei-Komponenten-System beschrieben, deren mRNA-Mengen nach dem Wechsel zu anaeroben Bedingungen erniedrigt waren (Tabelle 16). RamB ist ein negativer Transkriptionsregulator von Genen, die

in den Acetatmetabolismus (*pta*, *ack*, *aceA* und *aceB*) involviert sind (Gerstmeir *et al.*, 2003). Bei Wachstumsanpassung, Hitze und oxidativem Stress spielt WhcE eine Rolle als Transkriptionsregulator (Kim *et al.*, 2005). AmtR ist der Masterregulator der Stickstoffkontrolle und spielt eine entscheidende Rolle im Stickstoffmetabolismus (Jakoby *et al.*, 2000). Ebenso ist GlnK in der Stickstoffkontrolle involviert (Nolden *et al.*, 2001). PhoRS ist ein Zwei-Komponenten-System, das bei der Anpassung an eine Phosphatlimitierung beteiligt ist (Kocan *et al.*, 2006). Eine erhöhte mRNA-Menge nach dem Wechsel zu anaeroben Bedingungen zeigten folgende Transkriptionsregulatoren: GlyR ist ein Aktivator von *glyA*, das die Serin-Hydroxymethyl-Transferase codiert (Schweitzer *et al.*, 2009). Der Transkriptionsregulator ArnR reprimiert die Expression des *narKGHIJ*-Operons und das Flavohämoproteingen (*hmp*) unter aeroben Bedingungen. Dieses Operon beinhaltet ein Nitrat/Nitrit-Transportergen (*narK*) und Nitrat-Reduktasegene (*narGHJI*), die für das anaerobe Wachstum von *C. glutamicum* mit Nitrat als terminalen Elektronenakzeptor benötigt werden (Nishimura *et al.*, 2008). Die Expression des *arg*- und *cys*-Operons wird von dem Transkriptionsregulator FarR beeinflusst. Das *arg*-Operon beinhaltet Gene, die für Enzyme des Argininbiosyntheswegs codieren, das *cys*-Operon beinhaltet Gene, die für die assimilatorische Reduktion von anorganischen Schwefelkomponenten codieren (Häussler *et al.*, 2007).

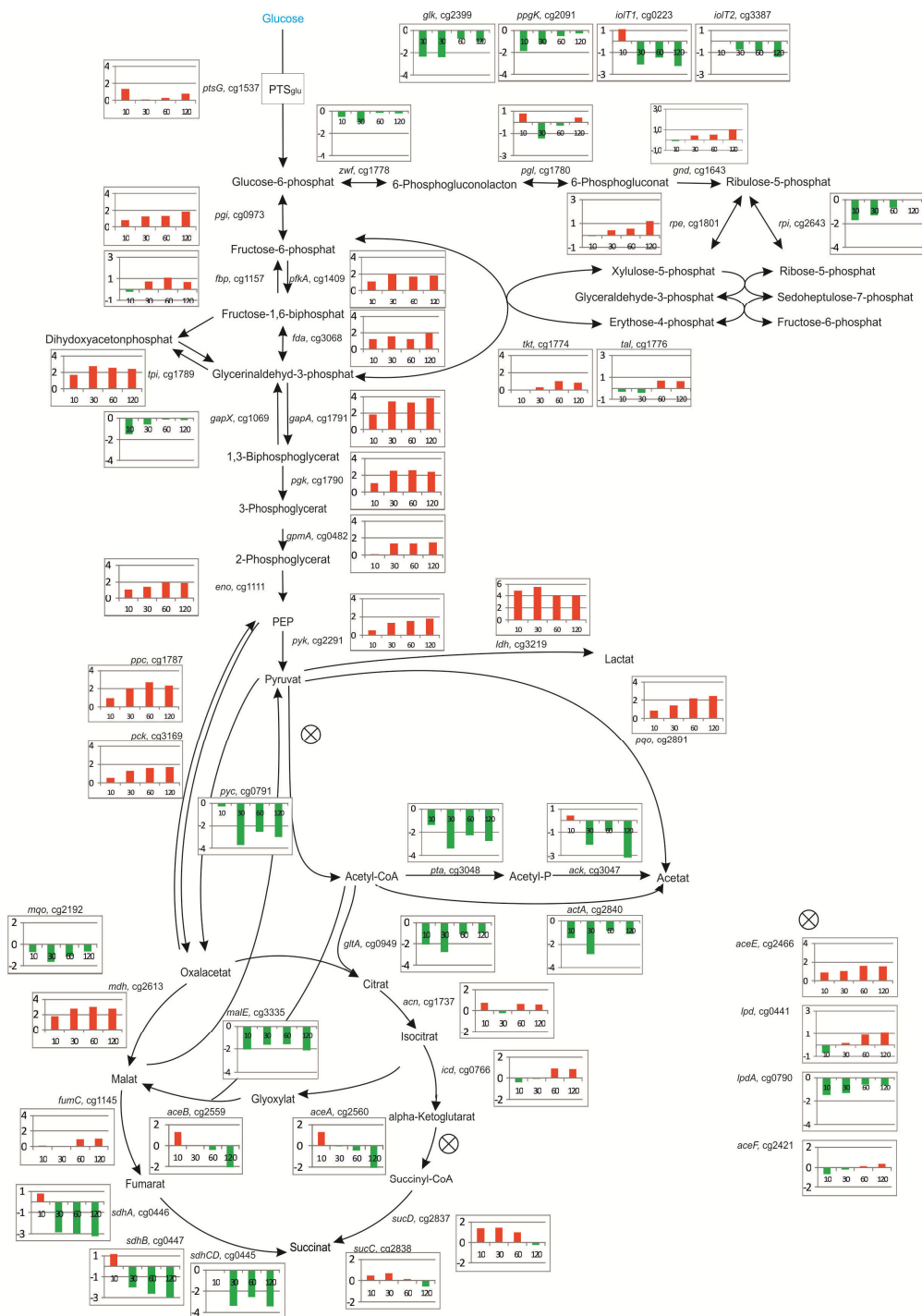


Abbildung 28: Übersicht der mRNA-Verhältnisse der Gene des Zentralstoffwechsels von *C. glutamicum* 10 min, 30 min, 60 min und 120 min nach einem Wechsel von aeroben zu anaeroben Bedingungen. Die Fluoreszenzverhältnisse wurden logarithmiert.

Tabelle 16: Transkriptionsregulatoren und Zweikomponenten-Systeme, deren mRNA-Verhältnis bei Vergleich von anaeroben zu aeroben Bedingungen erhöht oder erniedrigt waren. Die Mittelwerte von mindestens zwei DNA-Microarray-Experimenten sind dargestellt. Bedingung: Zu einem der vier Zeitpunkte muss das mRNA-Verhältnis < 0,5 oder > 2 sein und einen p-value von < 0,5 haben. * p-value > 0,05.

cg-Nr.	mRNA-Verhältnis anaerobe (nach dem Wechsel) / aerob (vor dem Wechsel)				Gen	Annotierte Funktion	Publikation
	10 min	30 min	60 min	120 min			
cg0027	*0,439	*0,559	*1,289	0,051	<i>ramB</i>	putativer Transkriptionsregulator, MarR-Familie	(Gerstmeir <i>et al.</i> , 2004)
cg0444	0,089	0,066	0,130	0,109		Transkriptionsregulator, involviert im Acetatmetabolismus, MerR-Familie	
cg0787	0,456	*0,441	0,499	*0,464		putativer Transkriptionsregulator, HTH_3-Familie	
cg0800	0,331	0,207	0,414	0,321		Transkriptionsaktivator des Propionatkatabolismus, MerR/HTH_3-Familie	
cg0878	0,200	*0,243	0,536	*0,679	<i>whcE</i>	Transkriptionsregulator, WhiB-Homolog	(Kim <i>et al.</i> , 2005)
cg0979	*0,547	*0,337	0,551	*0,513		putativer Transkriptionsregulator, PadR-ähnliche Familie	
cg0986	0,477	*0,675	0,509	*0,641	<i>amtR</i>	Masterregulator der Stickstoffkontrolle, TetR-Familie	(Jakoby <i>et al.</i> , 2000)
cg1053	0,198	0,159	0,229	0,291		Transkriptionsregulator, TetR-Familie	
cg1143	0,229	*0,156	*0,355	0,344		putativer Transkriptionsregulator, GntR-Familie	
cg1308	*0,156	0,240	0,360	*0,167		Transkriptionsregulator, TetR-Familie	
cg1846	*0,459	0,286	0,352	0,319	<i>rhcR</i>	putativer Transkriptionsregulator, TetR-Familie	(Nolden <i>et al.</i> , 2001)
cg2260	*0,331	*0,344	*0,518	*0,711		Stickstofftranskriptionsregulator PII	
cg2887	0,496	0,224	0,332	*0,876		Zweikomponenten-Sensor-Kinase, Phosphathomöostase	
cg2888	0,244	0,299	0,384	1,881		Zweikomponenten-Antwort-Regulator, Phosphathomöostase	
cg2932	*0,545	0,253	*0,770	*0,693	<i>phoR</i>	Putativer Transkriptionsregulator ROK-Familie, putative Zuckerkinase	(Kocan <i>et al.</i> , 2006)
cg3315	0,203	*0,674	1,257	1,486		putativer Transkriptionsregulator, MarR-Familie	
cg0483	1,365	2,178	2,166	2,191	<i>cgtS4</i>	Zweikomponenten-Sensor-Kinase	(Schweitzer <i>et al.</i> , 2009)
cg0484	*1,076	2,267	2,179	2,020	<i>cgtR4</i>	Zweikomponenten-Antwort-Regulator	
cg0527	*2,366	*4,602	2,540	*3,747	<i>glyR</i>	Transkriptionsregulator von <i>glyA</i> , ArsR-Familie	
cg0537	3,169	*4,188	1,211	*1,783		putativer Transkriptionsregulator, LysR-Familie	
cg1083	*2,017	*2,596	2,791	2,582	<i>cgtS10</i>	Zweikomponenten-Sensor-Kinase	(Nishimura <i>et al.</i> , 2008)
cg1084	*1,632	3,183	3,553	2,535		Zweikomponenten-Antwort-Regulator	
cg1327	*2,808	4,662	3,903	*5,723	<i>cgtR10</i>	putativer Transkriptionsregulator, Crp-Familie	
cg1340	*0,897	*1,286	2,912	3,210	<i>arnR</i>	Transkriptionsregulator von <i>narKGHIJ</i> und <i>hmp</i>	
cg1392	2,608	3,288	1,981	*1,716		putativer Transkriptionsregulator, CRO/CI-Familie, HTA_3-Familie	
cg1765	*1,484	*1,296	*1,065	2,420	<i>sufR</i>	Transkriptionsregulator des <i>suf</i> -Operons	
cg2431	1,645	*2,484	*2,964	*4,129		putativer Transkriptionsregulator,	

cg2500	3,061	4,832	3,998	4,233	<i>znr</i>	konserviert putativer Transkriptionsregulator, ArsR-Familie	(Häussler <i>et al.</i> , 2007)
cg3202	1,785	5,801	3,457	2,168	<i>farR</i>	Transkriptionsregulator, GntR-Familie	
cg3303	1,532	*2,416	3,408	3,323		putativer Transkriptionsregulator, PadR-Familie	

5.10 Anaerobe Produktion von Aminosäuren mit *C. glutamicum*

Die anaerobe Produktion von L-Alanin und L-Valin mit genetisch veränderten *C. glutamicum*-Stämmen ist möglich (Hasegawa *et al.*, 2012; Jojima *et al.*, 2010). Zum Beispiel kann unter anaeroben Bedingungen der Valinproduktionsstamm *C. glutamicum* R BN^{GE}CTMDLD/ Δ LDH 1,47 M L-Valin nach 24 h mit einer Ausbeute von 63% (mol Glucose/mol L-Valin) oder 1,94 M L-Valin nach 48 h produzieren (Hasegawa *et al.*, 2012). Der Valinproduktionsstamm *C. glutamicum* ATCC 13032 Δ aceE Δ pqo Δ pgi (pJC4ilvBNCE) kann unter aeroben Bedingungen 0,41 M L-Valin nach 74 h mit einer Ausbeute von 75% (mol Glucose/mol L-Valin) produzieren (Blombach *et al.*, 2008). Dies zeigt, dass die anaerobe Produktion Vorteile, wie zum Beispiel die kurze Produktionszeit, gegenüber aerober Produktion hat. Jedoch sind Alanin und Valin Aminosäuren, deren Synthesen kein ATP verbrauchen und somit stellt die Energielimitierung, die weiter oben besprochen wird, in der anaeroben Zelle kein Problem bei der Produktion dieser Aminosäuren dar. Anders verhält es sich wahrscheinlich bei der anaeroben Produktion von Aminosäuren, deren Synthese ATP benötigen. Dies sollte in dieser Arbeit getestet werden.

5.10.1 Anaerobe Produktion von Lysin mit *C. glutamicum*

Um herauszufinden, ob und in welchen Konzentrationen der Lysinproduktionsstamm *C. glutamicum* DM1945 anaerob Lysin produziert, wurde dieser Stamm in CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose mit und ohne 15 g/l Trypton in Serumflaschen kultiviert. Das Wachstum und die Produktion von Lysin sind in Abbildung 29 zu sehen. *C. glutamicum* DM1945 wuchs unter anaeroben Bedingungen ohne Trypton bis zu einer maximalen OD₆₀₀ von ca. 2. Im Gegensatz zum *C. glutamicum* Wildtyp (Daten nicht gezeigt) produzierte dieser Stamm nach Erreichen der stationären Phase innerhalb von 63 h ca. 2 mM Lysin (Abbildung 29). Wie üblich wurden Lactat, Succinat und Acetat gebildet (Daten nicht gezeigt). Wurde das Medium mit 15 g/l Trypton supplementiert, so erreichte

der DM1945-Stamm eine maximale OD_{600} von ca. 8. Die Konzentrationsbestimmung von Lysin konnte nicht eindeutig durchgeführt werden, da durch das Trypton Lysin schon zu Beginn der Kultivierung im Medium vorlag (Abbildung 29). Die Kinetik deutet aber darauf hin, dass in der erste Wachstumsphase das Lysin aus dem Trypton für die Biomasse-Bildung verwendet wird, später aber auch Lysin de novo gebildet und ins Medium sekretiert wird, ähnlich wie in der Kultur ohne Trypton.

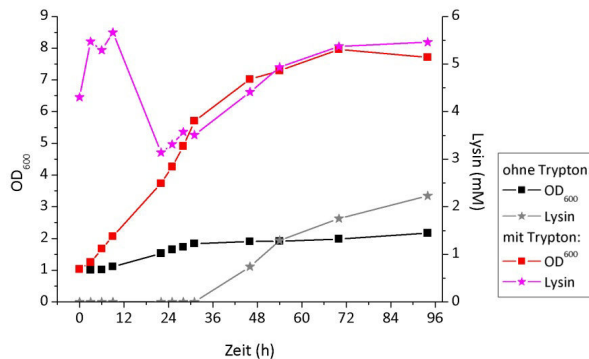


Abbildung 29: Anaerobe Kultivierung von *C. glutamicum* DM1945 in Serumflaschen in CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose mit und ohne 15 g/l Trypton. Es sind optische Dichte und Lysinkonzentration im Medium abgebildet. Mittelwerte von drei Kultivierungen sind dargestellt.

5.10.2 Anaerobe Produktion von Leucin und Valin mit *C. glutamicum*

Um herauszufinden, ob *C. glutamicum* unter anaeroben Bedingungen Leucin oder Valin produzieren kann, wurden die Leucinproduktionsstämme *C. glutamicum* MV1 und *C. glutamicum* MV2 und der Valinproduktionsstamm *C. glutamicum* $\Delta aceE$ in CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose in Serumflaschen kultiviert. Das Gen *aceE* codiert die Untereinheit E1 der Pyruvat-Dehydrogenase. Ist die Pyruvat-Dehydrogenase nicht funktionsfähig, kann kein Acetyl-CoA, das für den TCA-Zyklus notwendig ist, bereitgestellt werden. Daher wurde das Medium bei dem $\Delta aceE$ Stamm zusätzlich mit 1% (w/v) Acetat angereichert. Der Wachstumsphänotyp der drei Stämme zeigte keinen Unterschied zum Wildtyp. Die HPLC-Analyse der Überstände ergab, dass keiner der drei Stämme Aminosäuren produzierte.

6 Diskussion

Die heutige industrielle Produktion von Aminosäuren und organischen Säuren mit *C. glutamicum* basiert auf aeroben Fermentationsprozessen, die eine starke Belüftung und intensive Durchmischung zur ausreichenden Sauerstoffversorgung der Zellen benötigen (Garcia-Ochoa und Gomez, 2009). Diese zwei Prozessparameter sind wirtschaftlich gesehen sehr kostspielig und es stellt sich daher die Frage, ob für bestimmte Produkte auch eine anaerobe Produktion möglich wäre. Erste Schritte in diese Richtung wurden unternommen. Zum Beispiel wurden Stämme für die anaerobe Produktion von Isobutanol, L-Valin oder Succinat konstruiert (Blombach *et al.*, 2011; Hasegawa *et al.*, 2013; Litsanov *et al.*, 2012a; Okino *et al.*, 2005; Okino *et al.*, 2008a; Okino *et al.*, 2008b), jedoch ist der anaerobe Metabolismus von *C. glutamicum* bisher nur wenig untersucht worden. Das Ziel dieser Arbeit war es, einen besseren Einblick in Wachstum, Produktion, pH-Homöostase und Metabolismus von *C. glutamicum* unter anaeroben Bedingungen zu erlangen.

6.1 Anaerobes Wachstum von *C. glutamicum*

C. glutamicum wird derzeit als fakultativ anaerobes Bakterium beschrieben, welches anaerob ausschließlich durch Nitratatmung wachsen kann (Nishimura *et al.*, 2007; Takeno *et al.*, 2007). Im Gegensatz hierzu konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass *C. glutamicum* sehr wohl in der Lage ist unter anaeroben Bedingungen ohne Nitrat oder andere alternative Elektronenakzeptoren zu wachsen. *C. glutamicum* konnte fermentativ mit Glucose, Fructose, Saccharose und Ribose (Gruppe 1), jedoch nicht mit Gluconat, Pyruvat, Lactat, Acetat und Propionat (Gruppe 2) als einziger Kohlenstoff- und Energiequelle wachsen (vgl. Abbildung 5). Der Hauptunterschied zwischen diesen beiden Gruppen ist, dass die Verstoffwechselung der in Gruppe 1 enthaltenen Kohlenstoffquellen zur ATP-Synthese durch Substratkettenphosphorylierung führt, wohingegen die Verstoffwechselung der in Gruppe 2 enthaltenen Kohlenstoffquellen zur keiner ATP-Synthese führt. Diese Art der ATP-Gewinnung ist Voraussetzung für fermentatives Wachstum, da ohne funktionierende Atmungskette keine oxidative Phosphorylierung stattfinden kann und somit die Substratkettenphosphorylierung die einzige Alternative zur ATP-Synthese darstellt. Eine weitere Voraussetzung für zelluläres Wachstum ist die Reoxidation von NADH, das während

der Glycolyse gebildet wird. Beim aeroben Wachstum kann die Zelle NADH durch Atmung reoxidieren, beim fermentativen Wachstum ist dies nicht möglich. NADH wird bei der Verstoffwechselung (i) von Pyruvat zu Lactat von der Lactat-Dehydrogenase (LdhA), (ii) von Oxalacetat zu Malat von der Malat-Dehydrogenase (Mdh) und (iii) durch die NADH-Dehydrogenase (Ndh), die Elektronen von NADH zu Menachinon (MK) transferiert.

Überraschenderweise konnte *C. glutamicum* auf Ribose, jedoch nicht auf Gluconat als einziger Kohlenstoff- und Energiequelle wachsen, obwohl beide Substrate auf Höhe des Pentosephosphatwegs in den Zentralmetabolismus eintreten (vgl. Abbildung 30). Jedoch sind die Aufnahme und die Verstoffwechselung bis Ribose-5-phosphat unterschiedlich. Gluconat wird mit Hilfe der PMK in die Zelle aufgenommen und in der Zelle durch die Gluconatkinase zu 6-Phosphogluconat phosphoryliert und anschließend von der 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase (Gnd) zu Ribulose-5-phosphat und von der Ribulose-5-phosphat-Isomerase weiter zu Ribose-5-Phosphat umgewandelt. Ribose wird über einen ABC-Transporter in die Zelle aufgenommen und ebenfalls in der Zelle von der Ribokinase zu Ribose-5-phosphat phosphoryliert. Möglicherweise ist die Reaktion, die von der Gnd katalysiert wird, für diesen Unterschied im Wachstum verantwortlich. Bei dieser Reaktion wird gleichzeitig NADP^+ reduziert. Es ist bekannt, dass NADPH ein Inhibitor von Gnd ist (Moritz *et al.*, 2000; Ohnishi *et al.*, 2005). Möglicherweise ist die NADPH-Reoxidation unter anaeroben fermentativen Bedingungen nicht schnell genug, was eine hohe NADPH-Konzentration zur Folge hätte und zu einer Inhibierung der Gnd führen könnte. Somit wäre die Gluconatverstoffwechselung blockiert. Diese Hypothese wird durch die Beobachtung unterstützt, dass *C. glutamicum* Wildtyp weder mit Gluconat noch mit Pyruvat als einziger Kohlenstoff- und Energiequelle wachsen konnte, jedoch mit einer Kombination dieser beiden Substrate. Die Zellen produzierten bei Kultivierung mit Gluconat und Pyruvat Alanin, dessen Synthese NADPH verbraucht, wohingegen bei Kultivierung mit Glucose kein Alanin im Überstand detektierbar war. Somit wäre es denkbar, dass durch die Synthese von Alanin die NADPH-Konzentration in der Zelle erniedrigt war und es zu einer Aufhebung der allosterischen Hemmung der Gnd gekommen ist. Die Tatsache, dass der alaninauxotrophe Stamm *C. glutamicum* $\Delta\text{alaT}\Delta\text{avtA}$, der anaerob mit Glucose + Alanin wachsen konnte, jedoch kein anaerobes Wachstum mit Gluconat + Pyruvat + Alanin zeigte, unterstützt diese Vermutung (vgl. Kapitel 5.2). Somit scheint die Synthese von Alanin aus Pyruvat und der damit verbundene Verbrauch von NADPH notwendig für das Wachstum mit Gluconat zu

sein. Die Transhydrogenasen PntAB und UdhA aus *E. coli* reduzieren NADP^+ und oxidieren NADH, wobei die Reaktion auch in umgekehrte Richtung laufen kann (Boonstra *et al.*, 1999; Jackson, 2003). Könnten die Transhydrogenasen in *C. glutamicum* NADPH oxidieren so wäre der NADPH-Spiegel gesenkt, die Gnd wäre von NADPH nicht inhibiert und die Stämme könnten mit Gluconat wachsen. Die Ergebnisse aus den Wachstumsversuchen von *C. glutamicum* pEKEx2_pntAB und *C. glutamicum* pAN6_udhA lieferten keine Unterstützung für die Hypothese, sind jedoch wenig aussagekräftig, da nicht getestet wurde, ob die heterologen Transhydrogenasen PntAB und UdhA überhaupt aktiv in *C. glutamicum* gebildet wurden. Daher sind weitere Untersuchungen nötig, um die Annahme, dass ein NADPH-Anstau und eine damit verbundene Hemmung der 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase für das fehlende anaerobe Wachstum von *C. glutamicum* mit Gluconat verantwortlich ist, abschließend zu belegen.

Die Zugabe von Trypton (und auch von anderen Peptiden) verbesserte das anaerobe Wachstum von *C. glutamicum* erheblich, wohingegen anaerobes Wachstum mit Trypton als einziger Kohlenstoff- und Energiequelle nicht möglich war, da die Metabolisierung der Aminosäuren unter anaeroben Bedingungen nicht zur ATP-Gewinnung führte (vgl. Abbildung 9). In mehreren Studien wurde die Aufnahme von Peptiden gezeigt, jedoch wurde bis jetzt kein Peptidaufnahmesystem in *C. glutamicum* detailliert beschrieben (Bellmann *et al.*, 2001; Erdmann *et al.*, 1993; Hermann und Krämer, 1996; Mustafi *et al.*, 2012; Zittrich und Krämer, 1994). Höchstwahrscheinlich werden die tryptisch verdauten Peptide von der Zelle aufgenommen und dort von Peptidasen in einzelne Aminosäuren hydrolysiert. Diese Aminosäuren können dann zur Proteinsynthese und teilweise sicherlich auch als Kohlenstoff- und Energiequelle verwendet werden. Da Proteine ungefähr 50% der Zelltrockenmasse ausmachen, spart die Zelle durch die Bereitstellung von Aminosäuren sehr viel Energie, die sie sonst für deren Synthese aufwenden müsste (vgl. Tabelle 9). Die eingesparte Energie kann zur Synthese von anderen Zellbestandteilen, zum Beispiel RNA und DNA, Nukleotide, Lipide, Peptidoglycanmonomere und Proteinen oder zur pH-Homöostase (s. unten) verwendet werden. Somit kann die Zugabe von Peptiden zu einem verbesserten anaeroben Wachstum führen. Im Vergleich dazu war unter aeroben Bedingungen ein Wachstum mit Trypton als einziger Kohlenstoff- und Energiequelle möglich. Hier kann ATP durch die oxidative Phosphorylierung gewonnen werden. Jedoch erreichte *C. glutamicum* mit Trypton nur eine niedrige End-OD₆₀₀ im Vergleich zu Glucose als Kohlenstoff- und

[illegible]

- 92 -

dargestellt. ABC_{rib}: ATP-bindender Riboseimporter, AckA: Acetat-Kinase, Acn: Aconitase, ActA: Butyryl-CoA:Acetat-CoenzymA-Transferase, CS: Citrat-Synthase, Fbp: Fructose-1,6-bisphosphatase, Fda: Fructosebiphosphat-Aldolase, Fum: Fumarase, Gap: Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase, Gnd: 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase, GntK: Gluconat-Kinase, GntP: Gluconat-Permease, G6PD: Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase, Icd: Isocitrat-Dehydrogenase, Ldh: Lactat-Dehydrogenase, Mdh: Malat-Dehydrogenase, Ndh: NADH-Dehydrogenase, Pck: Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase, PDHC: Pyruvat-Dehydrogenase Complex, PfkA: 6-Phosphofructo-Kinase, PfkB: Fructose-1-phosphat-Isomerase, Pgi: Phosphogluco-Isomerase, Pgl: 6-Phosphoglucono-Lactonase, Pta: Phosphatacetyl-Transferase, PTS_{Fru}: fructosepezifisches Phosphotransferasesystem, PTS_{Glu}: glucosespezifisches Phosphotransferasesystem, PTS_{Suc}: Saccharosepezifische Phosphotransferasesystem, Pqo: Pyruvat:Menaquinon-Oxidoreduktase, Pyc: Pyruvat-Carboxylase, Pyk: Pyruvat-Dehydrogenase, RbsK: Ribokinase, Rpi: Ribose-5-phosphat-Epimerase, ScrB: Saccharose-6-phosphat-Hydrolase, Sdh: Succinat-Dehydrogenase

Die Wachstumsuntersuchungen mit Zugabe von definierten Aminosäurekombinationen unterstützten diese Schlussfolgerung. Stellte man den Zellen Aminosäuren, deren Synthese sehr energieaufwendig ist, zur Verfügung, so erreichten sie eine höhere maximale OD₆₀₀ als Zellen, denen Aminosäuren mit niedrigem oder gar keinem Energieaufwand für die Synthese zur Verfügung standen. Arginin ist die Aminosäure, deren Synthese am meisten (7 mol ATP pro mol Arginin) Energie benötigt und gleichzeitig häufig (4,29%) in der Biomasse von *C. glutamicum* vorkommt (Cocaign-Bousquet *et al.*, 1996; Neidhardt *et al.*, 1990). Das heißt, die Zelle muss zur ausreichenden Bereitstellung von Arginin, im Vergleich zu allen anderen Aminosäuren, mit Abstand am meisten Energie aufwenden. Die Zellen erreichten die höchste maximale OD₆₀₀, wenn den Zellen die Aminosäuren der Glutamatfamilie, wozu auch Arginin gehört, zur Verfügung standen (vgl. Abbildung 12A und B). Diese Beobachtung konnte bestätigt werden, die Zellen, denen alle Aminosäuren außer die der Glutamatfamilie zur Verfügung standen, erreichten die niedrigste OD₆₀₀ (vgl. Abbildung 12C).

Ein weiterer möglicher Grund für die Wachstumsverbesserung von *C. glutamicum* bei Zugabe von Aminosäuren der Glutamatfamilie ist, dass die Bereitstellung des Vorläufers der Glutamatfamilie (α -Ketoglutarat) in der anaeroben Zelle ein Problem darstellt. Es wurde gezeigt, dass der mRNA-Gehalt der Gene des oxidativen Teils des TCA-Zyklus unter anaeroben Bedingungen erniedrigt ist (Inui *et al.*, 2007; Nishimura *et al.*, 2011). Die in dieser Arbeit durchgeführten DNA-Microarrayanalysen unterstützen diese Hypothese, da auch hier der mRNA-Gehalt der Gene des oxidativen TCA-Zyklus in Zellen, die unter anaeroben Bedingungen kultiviert wurden, im Vergleich zu aerob kultivierten Zellen, erniedrigt war (vgl. Abbildung 28). Wobei zu beachten ist, dass der Fluss im oxidativen Teil des TCA-Zyklus

unter anaeroben Bedingungen viel niedriger sein kann, da α -Ketoglutarat nur für die Biosynthese gebraucht wird, als unter aeroben Bedingungen, wo er Teil des vollständigen TCA-Zyklus ist. Wachstumsexperimente, bei denen α -Ketoglutarat zum Minimalmedium zugegeben wurde, konnten diese Annahme nicht bestätigen. Die Zellen erreichten mit α -Ketoglutarat keine signifikant höhere OD₆₀₀ als Zellen ohne. Es ist nicht bekannt, ob *C. glutamicum* α -Ketoglutarat überhaupt in die Zelle aufnehmen kann. Somit konnte nicht bestätigt werden, dass der erniedrigte mRNA-Gehalt von Genen des oxidativen TCA-Zyklus unter anaeroben Bedingungen die Synthese der Aminosäuren der Glutamatfamilie beeinträchtigt.

Der Einfluss von Kohlenstoffdioxid auf das anaerobe Wachstum von *C. glutamicum* wurde in dieser Arbeit getestet. Im Bioreaktor konnte durch die Begasung mit CO₂ eine deutlich höhere Biomassebildung erreicht werden. Auch war es möglich, das anaerobe Wachstum in Serumflaschen durch Zugabe von Natriumbicarbonat zu beschleunigen, jedoch ohne Erhöhung der Biomassebildung (vgl. Kapitel 5.7). CO₂ wird zum einen im reduktiven Teil des TCA-Zyklus zur Synthese von Succinat benötigt, indem Oxalacetat durch Carboxylierung von PEP oder Pyruvat produziert wird. Zum anderen wird CO₂ in der Fettsäure- und Mycolsäurebiosynthese benötigt. Möglicherweise ist der Oxalacetatspiegel durch die Begasung mit CO₂ in der Zelle erhöht und somit sind mehr Vorläufermoleküle (Oxalacetat) für die Synthese der Aminosäuren der Aspartatfamilie vorhanden. Dadurch könnte eine Wachstumsinhibierung, ausgelöst durch zu wenig synthetisierte Aminosäuren der Aspartatfamilie, aufgehoben sein. Anaerobe Wachstumsversuche zeigten jedoch, dass durch die Zugabe der Aminosäuren der Aspartatfamilie keine Wachstumsverbesserung erzielt werden konnte. Ebenso nimmt die Succinatmenge bei höherer CO₂-Verfügbarkeit nicht zu. Durch diese zwei Beobachtungen ist es wahrscheinlicher, dass der stimulatorische Effekt von CO₂, durch die verbesserte Fettsäure- und Mycolsäurebiosynthese hervorgerufen wird.

Tabelle 17 gibt einen Überblick über die besten Wachstumsraten bzw. über die höchsten erreichten OD₆₀₀-Werte von *C. glutamicum* Wildtyp und *C. glutamicum* $\Delta actA \Delta pqq \Delta pta-ackA$ in unterschiedlichen Kultivierungssystemen und Medien und bei unterschiedlicher Begasung. Die höchste Wachstumsrate von 0,14 1/h wurde von *C. glutamicum* Wildtyp im Bioreaktor in CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose und 15 g/l Trypton bei einer Begasung von 90%

N₂ und 10% CO₂ erreicht. Unter den gleichen Bedingungen erreichte *C. glutamicum* $\Delta actA\Delta pqo\Delta pta-ackA$ die höchste OD₆₀₀ von 16,8.

Tabelle 17: Überblick über OD₆₀₀ und Wachstumsrate von *C. glutamicum* Wildtyp und *C. glutamicum* $\Delta actA\Delta pqo\Delta pta-ackA$ in unterschiedlichen Kultivierungssystemen und Medien und bei unterschiedlicher Begasung.

Stamm	Kultivierungssystem	CGXII-Medium mit	Begasung	OD ₆₀₀	Wachstumsrate μ (1/h)
<i>C. glutamicum</i> Wildtyp	Serumflaschen	222 mM Glucose	-	2,2 ± 0,1	linear
		222 mM Glucose + 15 g/l Trypton	-	11,8 ± 0,2	0,10 ± 0,00
		222 mM Glucose + 15 g/l Trypton + 50 mM Na-Bicarbonat	-	9,1 ± 1,0	0,13 ± 0,02
	Bioreaktor	222 mM Glucose	100% N ₂	2,9 ± 0,1	linear
		222 mM Glucose + 15 g/l Trypton	100% N ₂	6,0 ± 0,3	0,08 ± 0,01
		222 mM Glucose + 15 g/l Trypton	90% N ₂ + 10% CO ₂	12,7 ± 0,3	0,14 ± 0,00
<i>C. glutamicum</i> $\Delta actA\Delta pqo\Delta pta-ackA$	Bioreaktor	222 mM Glucose + 15 g/l Trypton	90% N ₂ + 10% CO ₂	16,8 ± 0,4	0,08 ± 0,00

6.2 Protonentranslokation und die damit verbundene pH-Homöostase von *C. glutamicum* unter anaeroben Bedingungen

Der pH-Wert hat Einfluss auf die Löslichkeit von Nährstoffen und Spurenelementen sowie den Zellstoffwechsel. Um einen konstanten intrazellulären pH-Wert bei sich ändernden extrazellulären pH-Werten aufrechtzuerhalten, müssen Bakterien pH-Homöostase betreiben. Diese ist entscheidend für die Funktionalität und Stabilität der zellulären Enzyme und somit für das Überleben der Zelle.

Das Wachstumsoptimum von *C. glutamicum* unter anaeroben Bedingungen in Minimalmedium liegt bei pH 7,5, was dem intrazellulären pH unter aeroben Bedingungen entspricht (Follmann *et al.*, 2009b). Die Wachstumsraten verringern sich bei pH-Werten von 6,5 und 7,0 sowie 8,0 und kein Wachstum findet bei pH 6,0 statt. Unter aeroben Bedingungen liegt das Wachstumsoptimum zwischen pH 7,0 und 8,5, bei extrazellulären pH-Werten unter 6,0 und über 9,0 nimmt die Wachstumsrate drastisch ab und bei pH 4,0 sowie

10,5 und 11,0 konnte kein Wachstum festgestellt werden (Follmann *et al.*, 2009b). Somit ist der pH-Bereich für das Wachstumsoptimum und -vermögen unter anaeroben Bedingungen stark verringert. Dies ist nicht verwunderlich, da die Mechanismen der pH-Homöostase unter anaeroben fermentativen Bedingungen vermutlich deutlich weniger effektiv sind im Vergleich zu aeroben Bedingungen. Die Protonentranslokation der Atmungskette, welche bei der pH-Homöostase eine entscheidende Rolle spielt, indem sie Protonen über die Membran vom Zellinneren zum Zelläußeren transportiert, funktioniert nicht ohne Sauerstoff oder einen anderen alternativen Elektronenakzeptor. Unter anaeroben fermentativen Bedingungen sind nur zwei protonentranslozierende Mechanismen vorhanden: (i) Die Zellen können mit einer Typ-II NADH-Dehydrogenase (Ndh) Elektronen von NADH zu Menachinon (MK) transferieren. Um den MKH₂-Pool wieder zu regenerieren, koppelt die Succinat:Menachinon-Oxidoreduktase (Sdh) die Menachinonoxidation mit der Reduktion von Fumarat. Dabei werden zwei Protonen über die Membran nach außen transferiert (Bott und Niebisch, 2003; Schirawski und Uden, 1998). Jedoch ist das gebildete Fumarat wahrscheinlich nicht ausreichend für eine effiziente Protonentranslokation. (ii) Möglicherweise hydrolysiert die F₁F_o-ATP-Synthase ATP, um Protonen aus der Zelle zu pumpen. Die F₁F_o-ATP-Synthase besteht aus zwei Komplexen: Der membrangebundene F_o-Komplex besteht aus den Untereinheiten a, b und c und besitzt eine protonentransportierende Aktivität. Der F₁-Komplex ist peripher an den F_o-Komplex gebunden, besitzt ATPase-Aktivität und besteht aus den Untereinheiten α , β , γ , δ und ϵ . Typischerweise nutzt die F₁F_o-ATP-Synthase den elektrochemischen Protonengradienten, der von der Atmungskette aufgebaut worden ist, um ATP aus ADP und freiem Phosphat zu synthetisieren. Für eine Vielzahl von Bakterien ist die Umkehrung dieses Mechanismus, die Hydrolyse von ATP, um Protonen aus der Zelle zu pumpen und somit den intrazellulären pH zu regulieren, gezeigt worden. Zum ersten Mal wurde dies in *Enterococcus hirae* (ehemals *Streptococcus faecalis*) beobachtet. Dieser Stamm kann ATP nur durch die Substratkettenphosphorylierung gewinnen, da er keine Atmungskette besitzt und somit keine oxidative Phosphorylierung betreiben kann (Kobayashi *et al.*, 1986). Dennoch besitzt dieses Bakterium eine F₁F_o-ATP-Synthase. Diese dient der Aufrechterhaltung des intrazellulären pH-Werts, indem sie Protonen exportiert (Harold *et al.*, 1970). Es wurde gezeigt, dass die Menge der gebildeten F₁F_o-ATP-Synthase sowie deren Aktivität bei niedrigem externen pH erhöht ist und dass mutierte Zellen, in denen die verstärkte Bildung

der F_1F_o -ATP-Synthase bei pH-Stress inhibiert ist, den intrazellulären pH-Wert nur eingeschränkt kontrollieren können (Kobayashi *et al.*, 1986; Kobayashi und Unemoto, 1980). Weiterhin sind Mutanten von *Enterococcus hirae*, in denen das Gen für die α -Untereinheit der F_1F_o -ATP-Synthase beschädigt ist, nicht in der Lage, bei einem extrazellulären pH von 6,0 zu wachsen (Suzuki *et al.*, 1993). Einen weiteren Beweis für die pH-regulierenden Eigenschaften der F_1F_o -ATP-Synthase liefern Untersuchungen zu *Mycobacterium smegmatis*, einem nahen Verwandten von *C. glutamicum*. Wurde *Mycobacterium smegmatis* mit N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid (DCCD), einem Inhibitor der F_1F_o -ATP-Synthase, behandelt, waren die Zellen nicht mehr in der Lage, den pH-Gradienten bei einem extrazellulären pH von 5 aufrecht zu erhalten (Rao *et al.*, 2001). Ebenso ist die Überlebensrate von mit DCCD behandelten *Listeria monocytogenes* viel geringer im Vergleich zu unbehandelten Zellen bei einem extrazellulären pH von 3, wohingegen es bei einem pH-Wert von 7,3 keinen Unterschied in der Überlebensrate gibt (Datta und Benjamin, 1997). Dazu muss gesagt werden, dass infolge der Inaktivierung der F_1F_o -ATP-Synthase durch die Behandlung mit DCCD der intrazelluläre ATP-Pool und somit alle ATP-abhängigen Prozesse beeinflusst werden. Der Protonenexport der F_1F_o -ATP-Synthase könnte für die pH-Homöostase in *C. glutamicum* DOOR (Stamm dem die Gene des bc_1 -Komplexes und der bd -Oxidase fehlt - „DOOR“: devoid of oxygen respiration) essenziell sein (Koch-Körfges *et al.*, 2013). Eine ausführliche Untersuchung zur Rolle der F_1F_o -ATP-Synthase in *C. glutamicum* bei sauren Bedingungen wurde nicht durchgeführt. In dieser Arbeit wurde gezeigt, dass die ATP-Bildung unter anaeroben Bedingungen in *C. glutamicum* offensichtlich nicht ausreicht um die F_1F_o -ATP-Synthase für die Protonentranslokation und somit pH-Homöostase mit genügend Energie zu versorgen. Dies drückt sich in einer verringerten pH-Toleranz unter anaeroben Bedingungen aus. Außerdem braucht *C. glutamicum* unter anaeroben Bedingungen länger, um den intrazellulären pH nach einem Shift von 7,5 auf 6,0 wieder in den physiologischen Bereich zu bringen, ohne als auch mit Trypton im Vergleich zu aeroben Bedingungen. Auch dies lässt sich mit der nicht funktionierenden Protonentranslokation über die Atmungskette erklären. Die anaerobe Zelle kann die plötzlich einströmenden Protonen nur langsam wieder aus der Zelle transportieren, wohingegen die aerobe Zelle durch Atmung die überschüssigen Protonen aus der Zelle pumpen kann.

Es gibt aktive und passive Mechanismen, wie Bakterien ihren intrazellulären pH stabil halten können. Zu den passiven gehört die Cytoplasmamembran. Eine Veränderung der

Fettsäurezusammensetzung in der Zellmembran kann vor Säurestress schützen. Wird zum Beispiel *Streptococcus mutans* bei einem pH von 5 kultiviert, so können in der Zellwand viele einfach ungesättigte und verlängerte Fettsäuren nachgewiesen werden. Diese kommen bei einer Kultivierung bei pH 7 nicht vor (Quivey *et al.*, 2000). Die Veränderung der Fettsäuren in der Zellmembran führen zu einer veränderten Protonenpermeabilität, die in saurer Umgebung verhindert, dass Protonen durch Diffusion in die Zelle gelangen (Ma und Marquis, 1997). Ein weiterer passiver Mechanismus ist die Pufferkapazität des Cytoplasmas, welche durch Nukleinsäuren und die Aminosäureseitenketten der Proteine zustande kommt (Booth, 1985). Zu den aktiven Mechanismen gehört insbesondere die Stabilisierung des intrazellulären pH-Werts durch den kontrollierten Transport von Protonen über die Zellmembran. Zum Beispiel pumpen die Natrium-Protonen Antiporter MdfA (*multi drug resistance* Transporter) und NhaA (Natrium-Protonen Antiporter) in *Escherichia coli* unter alkalischen Bedingungen Protonen in die Zelle, um so den intrazellulären pH im physiologischen Bereich zu halten (Lewinson *et al.*, 2004; Padan *et al.*, 2005). Die durch diesen Vorgang ausströmenden Natrium-Ionen werden wieder durch Natrium-Substrat-Symporter in die Zelle transportiert, somit ist eine Natrium-Homöostase gewährleistet (Tsuchiya und Wilson, 1978). In der Literatur wird ebenfalls über die Beteiligung der F_1F_o -ATP-Synthase bei der Aufrechterhaltung des intrazellulären pH-Werts unter alkalischen Bedingungen diskutiert. Bei der ATP-Synthese durch die F_1F_o -ATP-Synthase werden Protonen in das Cytoplasma importiert. Somit bedeutet eine erhöhte Aktivität dieses Enzyms einen erhöhten Import von Protonen. Eine Analyse des Transkriptoms von *E. coli* zeigte, dass die F_1F_o -ATP-Synthase während des Wachstums bei pH 8,7 induziert wird (Maurer *et al.*, 2005). Ist der intrazelluläre pH zu sauer, werden zahlreiche Mechanismen aktiv, die den intrazellulären pH stabilisieren. Zum Beispiel werden in *E. coli* Aminosäuren (Glutamat, Lysin oder Arginin) decarboxyliert. Die Decarboxylase ersetzt die α -Carboxylgruppe der Aminosäure durch ein Proton aus dem Cytoplasma und ein Antiporter transportiert das decarboxylierte Produkt im Austausch gegen eine neue Aminosäure aus der Zelle (Cotter und Hill, 2003; Gut *et al.*, 2006). Ein weiterer Mechanismus zur Bekämpfung des Säurestresses sind die Arginin-Deiminasen. In vielen Milchsäurebakterien und Gram-positiven Bakterien, wie zum Beispiel *Bacillus subtilis* wird Arginin zu Ornithin, Ammonium und CO_2 umgesetzt (Cotter und Hill, 2003). Weiterhin wurde gezeigt, dass zum Beispiel *E. coli* (Kroll und Booth, 1981), *Lactococcus lactis* (Kashket und Barker, 1977) oder *Enterococcus*

faecalis (Bakker und Mangerich, 1981) bei sauren extrazellulären Bedingungen zur Aufrechterhaltung eines neutralen intrazellulären pH-Werts Kalium benötigen. Der Mechanismus hierfür konnte bisher nicht hinreichend geklärt werden. Ein weiterer Mechanismus, der ausführlich weiter unten im Text beschrieben wird, ist die Hydrolyse von ATP durch die F_1F_o -ATP-Synthase zum Exportieren von Protonen. Es wurden keine homologen Proteine von MdfA, NhaA, Aminosäuren-Decarboxylasen/-Antiporter und Arginindeiminasen in *C. glutamicum* gefunden (Follmann *et al.*, 2009b; Kalinowski *et al.*, 2003). Die Notwendigkeit von Kalium für die pH-Homöostase wurde auch für *C. glutamicum* beschrieben. Unter Standardlaborbedingungen benötigt *C. glutamicum* kein zusätzliches Kalium um den intrazellulären pH und das Membranpotential zu erhalten (Follmann *et al.*, 2009a). Mutanten, die keinen Kaliumtransporter besitzen, wachsen unter alkalischen Bedingungen gleich wie Wildtyp-Zellen (Ochrombel *et al.*, 2011). Jedoch ist die Kaliumkonzentration unter sauren externen pH-Werten für die pH-Homöostase essentiell. Es wurde ein direkter Zusammenhang zwischen der Einstellung des intrazellulären pH-Werts und der Einstellung des Membranpotentials festgestellt. Kalium senkt das Membranpotential ab und stimuliert somit möglicherweise Komponenten, die Protonen exportieren. Dadurch wird der intrazelluläre pH-Wert angehoben (Follmann *et al.*, 2009a). Die meisten Bakterien haben einen neutralen oder leicht alkalischen intrazellulären pH (Booth, 1985). *C. glutamicum* weist einen intrazellulären pH-Wert von 7,5 bei einem extrazellulären pH-Wert von 7,5 auf. Unter aeroben Bedingungen kann *C. glutamicum* im Bereich von pH 6,0 bis 9,0 eine effektive pH-Homöostase betreiben, der intrazelluläre pH verändert sich in diesem Bereich kaum (pH 7,0 bis 8,0). Wird der extrazelluläre pH-Wert jedoch kleiner 6,0 oder größer 9,0 fällt bzw. steigt der intrazelluläre pH sehr schnell und die Wachstumsraten verringern sich bis kein Wachstum mehr stattfindet (Follmann *et al.*, 2009b).

Sobald den Zellen Trypton zur Verfügung steht, verbessert sich nicht nur das anaerobe Wachstum, sondern auch die Fähigkeit im sauren oder alkalischen pH-Bereich zu wachsen (pH 5,5 und 8,5). Höchstwahrscheinlich wird das bei der Aminosäure-Biosynthese „eingesparte“ ATP, wie oben diskutiert, von der F_1F_o -ATP-Synthase hydrolysiert und zum Aufbau der PMK und/oder zur pH-Homöostase verwendet. Wenn die Rate der ATP-Hydrolyse sehr hoch ist, so könnte der schnelle Verbrauch von ATP durch die F_1F_o -ATP-Synthase das Wachstum hemmen. Dies trifft auch auf das anaerobe Wachstum

ohne Trypton zu. Über die Hydrolyseaktivität der F_1F_o -ATP-Synthase in *C. glutamicum* und anderen Organismen ist nichts bekannt.

Die Hypothese der Hydrolyse des „eingesparten“ ATPs durch die F_1F_o -ATP-Synthase wird von Wachstumsexperimenten mit *C. glutamicum* Wildtyp, einer *C. glutamicum* AtpG-S273P-Mutante und der *C. glutamicum* ΔF_1F_o -Mutante gestützt (vgl. Abbildung 14). Die ΔF_1F_o -Mutante, die keine funktionierende F_1F_o -ATP-Synthase besitzt, erreicht bei aerober Kultivierung mit Glucose in Minimalmedium in Schüttelkolben 47% der Wachstumsrate und 65% der Biomasse des Wildtyps (Koch-Körfges *et al.*, 2012). Der Stamm *C. glutamicum* AtpG-S273P weist eine Punktmutation in der γ -Untereinheit des F_1 -Komplexes auf (Sekine *et al.*, 2001). Diese Punktmutation verringert die ATPase-Aktivität in *C. glutamicum* ATCC14067 um 75% (Sekine *et al.*, 2001), in *C. glutamicum* ATCC13032 um 69% (diese Arbeit) im Vergleich zum Wildtyp. Bei Kultivierung unter aeroben Bedingungen im Bioreaktor ist die Wachstumsrate der Mutante im Vergleich zum Wildtyp geringer, wobei die Biomasse am Ende der Kultivierung ungefähr die gleich ist (Sekine *et al.*, 2001). Beide Mutanten wachsen unter anaeroben Bedingungen in Minimalmedium ohne Peptide viel besser als der Wildtyp. Wenn jedoch das Medium mit Peptiden supplementiert worden ist, wächst der Wildtyp besser als die Mutanten. Dieses Ergebnis könnte darauf zurückzuführen sein, dass die Stämme in Medium ohne Peptide sehr wenig ATP für die Biosynthese zur Verfügung haben. Im Wildtyp verkleinert die ATP-Hydrolyse die ATP-Verfügbarkeit, was sich zusätzlich negativ auf das Wachstum auswirkt. Die Mutanten können kein oder nur sehr wenig ATP hydrolysieren und somit haben die Mutanten keinen oder nur einen sehr kleinen „ATP-Verlust“ durch Hydrolyse im Vergleich zum Wildtyp. Aber mit Peptiden kann der Wildtyp schneller und zu höheren Zelldichten wachsen als die zwei Mutanten. Unter diesen Bedingungen ist die ATP-Bereitstellung wesentlich besser, es sind genug Aminosäuren für die Proteinsynthese vorhanden und der Wildtyp kann mehr ATP für die Hydrolyse aufbringen, kann somit besser pH-Homöostase betreiben. Die Mutanten können kein oder nur sehr wenig ATP hydrolysieren und können daher keine oder nur eine sehr ineffektive pH-Homöostase betreiben. Das etwas bessere Wachstum der AtpG-S273P-Mutante im Vergleich zur ΔF_1F_o -Mutante kann vermutlich auf die restliche ATPase-Aktivität zurückgeführt werden.

6.3 Inhibierung des Wachstum unter anaeroben Bedingungen

Durch Zugabe von Peptiden und Kohlenstoffdioxid konnte das anaerobe Wachstum von *C. glutamicum* beschleunigt und höhere optische Dichten erreicht werden. Dabei blieb jedoch die Frage offen, warum *C. glutamicum* aufhört zu wachsen, obwohl noch Glucose im Medium vorliegt. Um dies zu klären, wurde eine Reihe von Untersuchungen durchgeführt. Mit Hilfe von mikroskopischen Aufnahmen und der Bestimmung des Zellvolumens konnte ausgeschlossen werden, dass die Erhöhung der optischen Dichte das Resultat einer Vergrößerung des Zellvolumens ist. Das Zellvolumen erhöhte sich zwar in den ersten 24 Stunden der Kultivierung, was ein normaler Vorgang ist, da die Zellen aus einer substratlimitierten Vorkultur stammten (Allgemeinwissen, Arbeitsgruppe Prof. Oldiges, Forschungszentrum Jülich), jedoch blieb die Zellgröße im weiteren Wachstumsverlauf konstant. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die Zellen unter anaeroben Bedingungen nicht geschädigt werden und dies daher nicht der Grund für das Einstellen des Wachstums nach ca. 25 Stunden ist. Durch die 7-malige Überimpfung von Zellen in jeweils frisches Medium konnte gezeigt werden, dass sauerstoffabhängige Enzyme für das anaerobe Wachstum von *C. glutamicum* nicht essentiell sind. Möglicherweise haben die Zellen zum Zeitpunkt ihres Wachstumsstopps eine essentielle Substanz, die sich im Medium befindet, aufgebraucht. Dies konnte jedoch durch die Wachstumsexperimente in „gebrauchtem“ Medium ausgeschlossen werden. Allerdings wurde bei diesen Kultivierungen festgestellt, dass die Zellen eine Substanz sekretieren, die zu einer Wachstumsinhibierung führt. Jedoch konnten mittels Überstandsanalyse durch GC-MS-ToF keine auffälligen Stoffwechselprodukte außer den Fermentationsprodukten Lactat, Succinat und Acetat detektiert werden.

In der Literatur wird berichtet, dass Acetat bei neutralem pH toxisch auf das Zellwachstum von *E. coli* wirken kann, wenn es in hohen Konzentrationen im Medium vorhanden ist (Landwall und Holme, 1977). Acetat liegt bei pH 7,0 zu 99,4% in der deprotonierten (CH_3COO^- - Acetat) und zu 0,6% in der protonierten (CH_3COOH - Essigsäure) Form vor (der pKs von Acetat liegt bei 4,75). Die protonierte Essigsäure ist lipophil und kann die Lipidmembran der Zelle durchdringen und so ins Innere der Zelle gelangen, wo sie zu Acetat und H^+ dissoziiert. Hierbei wird der intrazelluläre pH abgesenkt (Repaske und Adler, 1981). Da die Konzentration der protonierten Essigsäure im Medium auf Grund des Eindringens in die Zelle abnimmt und ein ständiges Gleichgewicht zwischen protoniertem und

deprotoniertem Acetat herrscht, wird im Medium wieder Acetat protoniert, was einen erneuten Transfer von Essigsäure über die Membran in die Zelle ermöglicht. Das Medium bleibt bei diesem Vorgang weitestgehend neutral, da es im Vergleich zur Zelle ein sehr großes Volumen hat und zudem gepuffert ist. Auch das Zellinnere hat Pufferkapazität, die jedoch wahrscheinlich zu gering ist. Durch den kontinuierlichen Einstrom von Essigsäure in die Zelle und der Dissoziation zu Acetat und H^+ kann von einem Entkoppeln der protonenmotorischen Kraft gesprochen werden (Repaske und Adler, 1981). Um dem Absinken des intrazellulären pH-Werts entgegen zu wirken, braucht *E. coli* Energie, die die Zelle nicht weiter für das Wachstum verwenden kann und somit entsteht ein Wachstumsdefizit (Landwall und Holme, 1977; Luli und Strohl, 1990).

Ausgehend von der Vermutung, dass Acetat in hohen Konzentrationen das anaerobe Wachstum inhibiert, wurde der Stamm *C. glutamicum* $\Delta actA\Delta pqo\Delta pta\Delta ackA$ unter anaeroben Bedingungen im Bioreaktor in CGXII-Minimalmedium mit 222 mM Glucose und 15 g/l Trypton kultiviert (vgl. Abbildung 24). In diesem Stamm wurden alle bekannten acetatproduzierenden Stoffwechselwege deletiert. *C. glutamicum* $\Delta actA\Delta pqo\Delta pta\Delta ackA$ wächst in den ersten 9 Stunden langsamer als der Wildtyp. Dies kann durch die Deletion der Acetat-Kinase (*ackA*) hervorgerufen worden sein. AckA katalysiert die Umwandlung von Acetyl-Phosphat zu Acetat und überträgt das freiwerdende Phosphat auf ADP. Acetyl-Phosphat wird durch mehrere enzymatische Reaktionen aus Glucose gebildet. In der Mutante wird ohne AckA vermutlich weniger ATP synthetisiert und somit steht den Zellen weniger Energie zum Wachstum zur Verfügung, was ein langsames Wachstum zur Konsequenz hat. Nach 9 Stunden ist die Wachstumsgeschwindigkeit ungefähr gleich. Diese Beobachtung könnte mit der oben für *E. coli* beschriebenen Wirkung von Acetat als Entkoppler erklärt werden. Möglicherweise gibt es in *C. glutamicum* einen noch unbekannten Exporter, der das Acetat aus der Zelle transportiert (vgl. Abbildung 31). Mit diesem Exporter wäre ein Kreislauf geschlossen, der kontinuierlich Protonen in die Zelle transportiert. Um den intrazellulären pH konstant zu halten, müssen die Protonen in der anaeroben Zelle unter ATP-Verbrauch über die F_1F_o -ATP-Synthase wieder nach außen gepumpt werden. In der Mutante ist die Acetatkonzentration niedriger als im Wildtyp. Daher muss die Mutante weniger Energie für das Pumpen von Protonen aus der Zelle aufwenden, um den intrazellulären pH im physiologischen Bereich zu halten. Somit kann die Mutante gleich schnell wachsen wie der Wildtyp, sie bildet weniger ATP, da sie keine AckA mehr

besitzt, muss aber auch weniger ATP zum Pumpen von Protonen aufwenden. Aus diesem Grund könnten sich die Wachstumsgeschwindigkeiten von Wildtyp und Mutante nach 9 Stunden Kultivierung anpassen.

Nach 25 Stunden hört der Wildtyp auf zu wachsen, wohingegen die Mutante erst nach 46 Stunden aufhört. Dadurch erreicht die Mutante eine höhere maximale OD_{600} (16,4) als der Wildtyp (12,7). Vermutlich ist die Acetatkonzentration im Medium für den Wachstumsstopp ausschlaggebend. Zum Zeitpunkt des Wachstumsstopps des Wildtyps liegen $7,1 \pm 2,7$ mM Acetat im Medium vor. Die Mutante erreicht diese Acetatkonzentration erst nach 46 Stunden ($7,1 \pm 0,3$ mM Acetat) und hört dann auch auf zu wachsen. Das heißt bei einer Konzentration von ca. 7 mM Acetat hört *C. glutamicum* auf zu wachsen. Höchstwahrscheinlich wird bei dieser Konzentration zu viel ATP zur Aufrechterhaltung des intrazellulären pHs verbraucht und somit ist keine Energie mehr zum Wachstum vorhanden.

Dies jedoch kann nicht der einzige Grund für den Wachstumsstopp sein, da in einem vorhergehenden Versuch gezeigt worden ist, dass *C. glutamicum* in Medium, das mit 8 mM Acetat supplementiert worden ist, wachsen kann. Möglicherweise wird das Acetyl-CoA in *C. glutamicum* $\Delta actA \Delta pqo \Delta pta-ackA$ im oxidativen Teil des TCA-Zyklus zur Mycolsäurebildung oder zur Bildung von Aminosäuren der Glutamatfamilie verwenden, was zu einem besseren Wachstum führt, wohingegen im Wildtyp das Acetyl-CoA hauptsächlich zu Acetat umgesetzt wird.

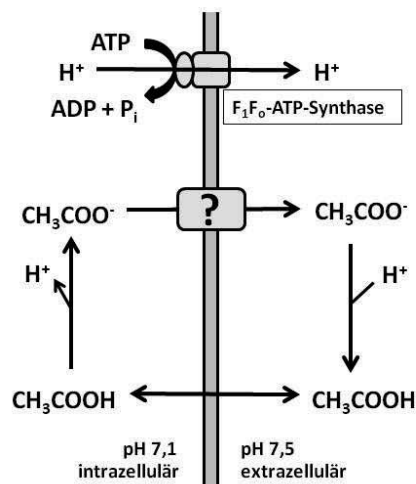


Abbildung 31: Schematische Darstellung des entkoppelnden Effekts von Acetat in anaeroben *C. glutamicum*-Zellen.

6.4 Genexpressionsprofil von *C. glutamicum* unter anaeroben Bedingungen

Ein genomweiter Vergleich der Genexpressionsprofile einer *C. glutamicum*-Kultur, die einem Wechsel von aeroben zu anaeroben Bedingungen unterzogen wurde, hat gezeigt, dass viele Gene unterschiedlich expremiert werden. In dieser Arbeit wurde jedoch nicht nur der Vergleich aerob vs. anaerob gemacht, sondern es wurde auch eine zeitabhängige Anpassung des Transkriptoms an anaerobe Bedingungen untersucht.

Die Transkriptmenge der meisten Glykolysegene wie zum Beispiel *pgi*, *pfkA*, *fda*, *gapA*, *tpi*, *pgk*, *gpmA* und *eno* wurde nach dem Wechsel zu anaeroben Bedingungen erhöht transkribiert. Das wurde erwartet, da die Atmungskette ohne Sauerstoff oder einem anderen Elektronenakzeptor keine oder nur sehr wenige Protonen aus der Zelle pumpen kann und somit die F_1F_o -ATP-Synthase auch kein ATP generieren kann. Die einzige Möglichkeit für die anaerobe Zelle ATP zu generieren ist die Glykolyse. Um schneller ATP über die Glykolyse generieren zu können, müssen die Glykolysegene erhöht transkribiert werden, was eine erhöhte mRNA-Menge und somit höchstwahrscheinlich eine erhöhte Proteinmenge unter anaeroben Bedingungen zur Folge hat. Mit dieser hohen Proteinmenge könnten die Zellen mehr Glucose verstoffwechseln und somit mehr ATP generieren. Jedoch ist die Rate des Glucoseabbaus unter anaeroben Bedingungen ungefähr gleich hoch wie unter aeroben Bedingungen. Studien in *E. coli* haben gezeigt, dass der Fluss durch die Glykolyse hauptsächlich vom intrazellulären Bedarf an ATP abhängt und nicht an der Überexpression der Glykolyseenzyme (Koebsmann *et al.*, 2002a; Koebsmann *et al.*, 2002b).

Die Transkriptmenge von *gapX* ist unter anaeroben Bedingungen verringert. GapX ist essentiell für das Wachstum unter gluconeogenetischen Bedingungen. Während bei niedrigen ATP Konzentrationen allein GapA aktiv ist, ist bei hohen ATP Konzentrationen auch GapX aktiv (Omumasaba *et al.*, 2004). Das heißt, dass in fermentierenden Zellen, wo höchstwahrscheinlich die ATP Konzentration niedrig ist, die gesamte GAPDH-Aktivität von GapA ausgeführt wird und die Transkription von GapX herunter-reguliert werden kann. Fbp wird in der Literatur als wichtiges Gluconeogenese-gen beschrieben (Qi *et al.*, 2007). Daher wurde erwartet, dass die Transkription des *fbp*-Gens unter anaeroben Bedingungen bei Wachstum mit Glucose erniedrigt ist. Jedoch wurde das Gen nach 30 Min anaerober Phase etwas erhöht transkribiert. Möglicherweise nutzt die Zelle dieses Gluconeogenese-gen um

den Kohlenstofffluss in Richtung des Pentosephosphatwegs zu leiten um NADPH im oxidativen Teil des Pentosephosphatwegs zu generieren.

Die Lactat-Dehydrogenase (LdhA) ist ein Schlüsselenzym des anaeroben Metabolismus. Sie oxidiert NADH um das in der Glykolyse verbrauchte NAD^+ wieder zu regenerieren. Wie erwartet steigt die Transkriptmenge nach dem Wechsel zu anaeroben Bedingungen sehr stark an, um möglicherweise die Zelle zur effektiveren NAD^+ -Pool-Regeneration zu befähigen. Auch bei den Untersuchungen von Inui *et al.* und Nishimura *et al.* wurde eine stark erhöhte Transkription der LdhA festgestellt (Inui *et al.*, 2007; Nishimura *et al.*, 2011).

Die mRNA-Menge der Phosphoenolpyruvat-Carboxylase (Pck), die von *ppc* codiert wird, sind nach dem Wechsel zu anaeroben Bedingungen erhöht, die mRNA-Mengen der Pyruvat-Carboxylase (Pyc) sind erniedrigt. Dies deutet darauf hin, dass unter anaeroben Bedingungen der Oxalacetatpool eher durch die Umsetzung von PEP durch die Pck aufgefüllt wird, als durch die Umsetzung von Pyruvat durch die Pyc. Durch Untersuchungen mit *C. glutamicum* Pck- und Pyc-Deletionsmutanten bestimmen auch Inui *et al.* die Pck als das Hauptanapleroseenzym unter anaeroben Bedingungen (Inui *et al.*, 2004). Unter aeroben Bedingungen agieren die Pyc und die Pck in *C. glutamicum* simultan, wobei die Pyc ca. 90% der Oxalacetatsynthese beisteuert und somit als Hauptanapleroseenzym gilt (Petersen *et al.*, 2000).

Hauptsächlich durch die Pck und mit Hilfe der Malat-Dehydrogenase, Fumarathydratase und Succinat-Dehydrogenase können die *C. glutamicum*-Zellen unter anaeroben Bedingungen Succinat produzieren (Inui *et al.*, 2004). *C. glutamicum* besitzt zwei Malat-Dehydrogenasen, die cytoplasmatische NAD-abhängige Malat-Dehydrogenase (Mdh) und die NAD-unabhängige membranassoziierte Malat-Chinon-Oxidoreduktase (Mqo) (Molenaar *et al.*, 1998). Inui *et al.* zeigten, dass die Mdh der Hauptkatalysator für die Umsetzung von Oxalacetat zu Malat unter anaeroben Bedingungen ist (Inui *et al.*, 2007). Unter aeroben Bedingungen ist die Mqo für die Umsetzung von Malat zu Oxalacetat im TCA-Zyklus verantwortlich und eine Mqo-Deletionsmutante kann nicht in Glucose-Minimalmedium wachsen, wohingegen eine Mdh-Deletionsmutante keinen Phänotyp zeigt (Molenaar *et al.*, 2000; Molenaar *et al.*, 1998). Die in dieser Arbeit produzierten Transkriptomerergebnisse konnten die von Inui *et al.* bestätigen, die Mdh ist unter anaeroben Bedingungen stark

erhöht transkribiert und die Mqo ist erniedrigt, was für die Mdh als Hauptkatalysator zur Umsetzung von Oxalacetat zu Malat spricht.

Die meisten Gene des oxidativen Arms des TCA-Zyklus (*gltA*, *acn*, *icd*, *sucA*, *sucB*, *sucC* und *sucD*) von *C. glutamicum* werden in der Literatur unter anaeroben Bedingungen als erniedrigt transkribiert beschrieben (Inui *et al.*, 2007). Dies wird damit begründet, dass die hauptsächliche Funktion des TCA-Zyklus unter anaeroben Bedingungen die Bereitstellung von biologischen Vorläufern und nicht die Energiegenerierung ist. Die in dieser Arbeit gewonnenen Daten stimmen nur teilweise mit denen aus der Literatur überein. Nur *gltA* wird erniedrigt transkribiert, die übrigen Gene des oxidativen Arms des TCA-Zyklus werden nur leicht verändert transkribiert. Dies ist ein Hinweis, dass unter anaeroben Bedingungen in wachsenden Zellen der oxidative Arm des TCA-Zyklus aktiv ist. Dies ist auch nicht verwunderlich, da die Zelle zum Wachstum den Vorläufer α -Ketoglutarat zur Synthese von Aminosäuren benötigt.

Bisher ist völlig unklar, welche Transkriptionsregulatoren an der Anpassung von *C. glutamicum* an anaerobe Bedingungen beteiligt sind. In anderen Organismen wurden einige beschrieben, zum Beispiel das DNA-bindende Protein Fnr in *E. coli* und *B. subtilis*. Dies ist der Hauptregulator für die Umstellung des Transkriptom von aeroben zu anaeroben Bedingungen (Gunsalus und Park, 1994; Kang *et al.*, 2005). Für *C. glutamicum* ist dieser Transkriptionsregulator nicht bekannt, es könnte höchstens ein homologer Regulator bekannt sein. Daher sollten in dieser Arbeit mögliche Transkriptionsregulatoren identifiziert werden, die an der Sauerstoff- und/oder Redoxsteuerung sowie an der Anpassung des Metabolismus und der Atmung an anaerobe Bedingungen beteiligt sind. Es sind 30 Transkriptionsregulatoren, davon 9 bekannte und 21 putative, identifiziert worden, deren mRNA-Menge nach einem Wechsel von aeroben zu anaeroben Bedingungen erhöht oder erniedrigt ist. Die in den Ergebnissen beschriebenen 9 bekannten Transkriptionsregulatoren werden bei einer Umstellung des Metabolismus an veränderte Umweltbedingungen benötigt. Jedoch konnte keiner als Hauptregulator für die Umstellung des Transkriptom von aeroben zu anaeroben Bedingungen identifiziert werden. Wenn es solch einen Masterregulator gibt, so befindet er sich möglicherweise unter den 21 identifizierten putativen Regulatoren. Um dies zu bestimmen müssen deren Funktion in einer fortführenden Arbeit genau untersucht werden.

6.5 Aminosäureproduktion mit anaeroben *C. glutamicum*-Zellen

Die Aminosäurenproduktion mit vorhandenen *C. glutamicum*-Aminosäureproduktionsstämmen sollte unter anaeroben Bedingungen mit wachsenden Zellen getestet werden. Hierfür wurde als erstes der L-Valinproduktionsstamm *C. glutamicum* $\Delta aceE$ ausgesucht. Dieser Stamm produziert unter aeroben Bedingungen mit wachsenden Zellen 30 bis 35 mM L-Valin aus 222 mM Glucose und 1,5% (w/v) Kalium-Acetat. Unter anaeroben Bedingungen konnte jedoch kein Valin im Überstand detektiert werden (vgl. Kapitel 5.10.2). Dies könnte an einem Ungleichgewicht zwischen der Reduktion und Oxidation des Cofaktors bei der L-Valinproduktion liegen (vgl. Abbildung 32): Bei der Synthese von 1 Mol L-Valin aus 1 Mol Glucose werden 2 Mol NADH in der Glykolyse gebildet. Es werden aber insgesamt 2 Mol NADPH verbraucht, eins von der Acetohydroxidisomero-Reduktase (AhaR), das andere bei der Regeneration von Glutamat (Bormann *et al.*, 1992), das als Aminogruppendonor für die Transaminase (Ta) fungiert (Marienhagen und Eggeling, 2008; Marienhagen *et al.*, 2005). Die Umsetzung von NADH in NADPH ist in *C. glutamicum* nicht möglich, da der Organismus keine Nicotinamidnukleotidtranshydrogenase besitzt, die die Reduktion von $NADP^+$ zu NADPH bei gleichzeitiger Oxidation von NADH zu NAD^+ katalysiert (Jackson, 2003). Aus diesem Sachverhalt ergeben sich nun zwei mögliche Ursachen für die nicht stattfindende Valinproduktion unter anaeroben Bedingungen. Erstens ist es möglich, dass nicht genügend NADPH in der Zelle zur Verfügung steht. NADPH wird im Pentosephosphatweg, der wahrscheinlich unter den getesteten Bedingungen nur wenig aktiv ist, generiert. Zweitens, es wurde gezeigt, dass die Glyceraldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase (GapA) von NADH inhibiert werden kann (Omumasaba *et al.*, 2004). Es ist möglich, dass das von der GapA gebildete NADH nicht schnell genug regeneriert wird, so dass NADH in der Zelle akkumuliert und somit die GapA feedback-inhibiert ist. Gegen diese Theorie spricht, dass Succinat und Lactat in hohen Konzentrationen gebildet werden, daher muss die Gap aktiv sein.

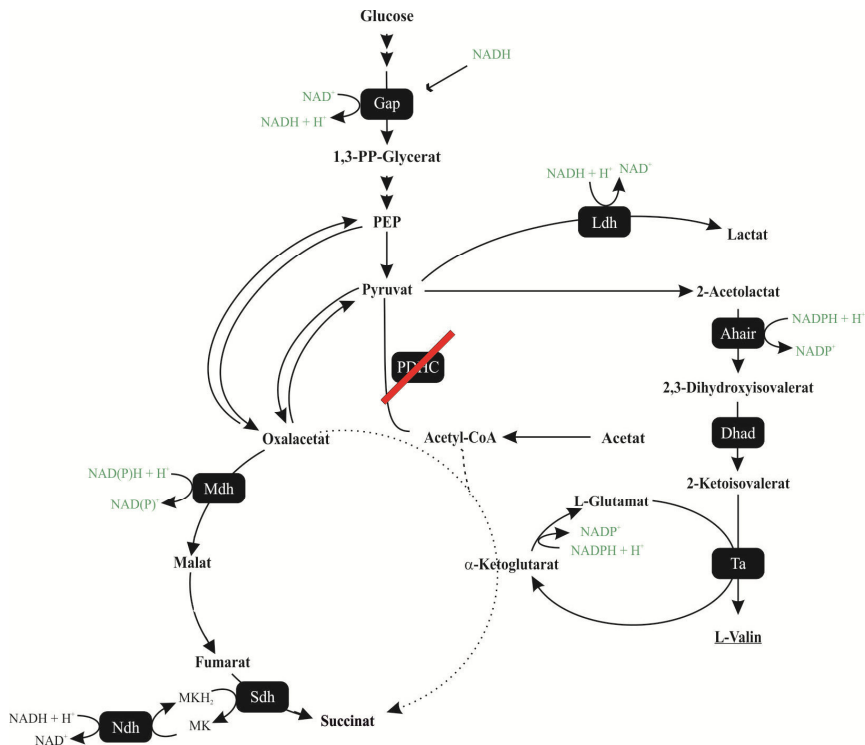


Abbildung 32: Stoffwechselweg von *C. glutamicum* $\Delta aceF$ unter anaeroben Bedingungen und Biosyntheseweg von L-Valin. Gap: Glyceraldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase, Ldh: Lactat-Dehydrogenase, Ahair: Acetohydroxidisomero-Reduktase, Dhad: Dihydroxid-Dehydratase, Ta: Transaminase, Mdh: Malat-Dehydrogenase, Sdh: Succinat-Dehydrogenase.

Der Lysinproduktionsstamm DM 1945 produziert unter anaeroben Bedingungen 2 mM L-Lysin. Daten über die Lysinproduktion unter aeroben Bedingungen stehen nicht zur Verfügung. Allerdings wurde die aerobe Lysinproduktion von *C. glutamicum* DM 1933, der den gleichen Genotyp wie DM 1945 hat mit dem Unterschied, dass in DM 1933 die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase (*pck*) deletiert ist, untersucht. Dieser Stamm produziert 33 mM L-Lysin (Blombach *et al.*, 2009). Aus diesem Vergleich lässt sich schlussfolgern, dass die unter anaeroben Bedingungen produzierten 2 mM sehr wenig sind.

Auch bei DM 1945 ist die Co-Faktorregenerierung unter anaeroben Bedingungen problematisch. Es müssen 4 Mol NADPH aufgewendet werden, um 1 Mol Lysin zu produzieren. Zusätzlich ist die Lysinsynthese energieaufwendig. Es sind 2 Mol ATP nötig, um 1 Mol Lysin zu synthetisieren. Wie oben diskutiert, steht der anaeroben Zelle sehr wenig

Energie zur Verfügung und daher werden die Zellen wahrscheinlich kaum Energie zur Lysinproduktion aufbringen können, da sie diese für das Wachstum benötigen.

Literaturverzeichnis

- Abe, S., Takayama, K., Kinoshita, S., 1967. Taxonomical studies on glutamic acid producing bacteria. *Appl Microbiol.* 13, 279-301.
- Bakker, E. P., Mangerich, W. E., 1981. Interconversion of components of the bacterial proton motive force by electrogenic potassium transport. *J Bacteriol.* 147, 820-6.
- Bellmann, A., Vrljic, M., Patek, M., Sahm, H., Krämer, R., Eggeling, L., 2001. Expression control and specificity of the basic amino acid exporter LysE of *Corynebacterium glutamicum*. *Microbiology.* 147, 1765-74.
- Birnboim, H. C., Doly, J., 1979. A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA. *Nucleic Acids Res.* 7, 1513-23.
- Blombach, B., Hans, S., Bathe, B., Eikmanns, B. J., 2009. Acetohydroxyacid synthase, a novel target for improvement of L-lysine production by *Corynebacterium glutamicum*. *Appl Environ Microbiol.* 75, 419-27.
- Blombach, B., Riester, T., Wieschalka, S., Ziert, C., Youn, J. W., Wendisch, V. F., Eikmanns, B. J., 2011. *Corynebacterium glutamicum* tailored for efficient isobutanol production. *Appl Environ Microbiol.* 77, 3300-10.
- Blombach, B., Schreiner, M. E., Bartek, T., Oldiges, M., Eikmanns, B. J., 2008. *Corynebacterium glutamicum* tailored for high-yield L-valine production. *Appl Microbiol Biotechnol.* 79, 471-9.
- Blombach, B., Schreiner, M. E., Holatko, J., Bartek, T., Oldiges, M., Eikmanns, B. J., 2007. L-valine production with pyruvate dehydrogenase complex-deficient *Corynebacterium glutamicum*. *Appl Environ Microbiol.* 73, 2079-84.
- Blombach, B., Seibold, G. M., 2010. Carbohydrate metabolism in *Corynebacterium glutamicum* and applications for the metabolic engineering of L-lysine production strains. *Appl Microbiol Biotechnol.* 86, 1313-22.
- Boonstra, B., French, C. E., Wainwright, I., Bruce, N. C., 1999. The *udhA* gene of *Escherichia coli* encodes a soluble pyridine nucleotide transhydrogenase. *J Bacteriol.* 181, 1030-4.
- Booth, I. R., 1985. Regulation of cytoplasmic pH in bacteria. *Microbiol Rev.* 49, 359-78.
- Bormann, E. R., Eikmanns, B. J., Sahm, H., 1992. Molecular analysis of the *Corynebacterium glutamicum gdh* gene encoding glutamate dehydrogenase. *Mol Microbiol.* 6, 317-26.
- Bott, M., Niebisch, A., 2003. The respiratory chain of *Corynebacterium glutamicum*. *J Biotechnol.* 104, 129-53.
- Bowman, L. A., McLean, S., Poole, R. K., Fukuto, J. M., 2011. The diversity of microbial responses to nitric oxide and agents of nitrosative stress close cousins but not identical twins. *Adv Microb Physiol.* 59, 135-219.
- Bradford, M. M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry.* 72, 248-54.
- Bramanti, E., Sortino, C., Onor, M., Beni, F., Raspi, G., 2003. Separation and determination of denatured α_{S1} -, α_{S2} -, β - and κ -caseins by hydrophobic interaction chromatography in cows', ewes' and goats' milk, milk mixtures and cheeses. *J Chromatogr A.* 994, 59-74.
- Chevalier, J., Pommier, M. T., Cremieux, A., Michel, G., 1988. Influence of Tween 80 on the Mycolic Acid Composition of Three Cutaneous *Corynebacteria*. *J Gen Microbiol.* 134, 2457-61.
- Cocaign-Bousquet, M., Guyonvarch, A., Lindley, N. D., 1996. Growth Rate-Dependent Modulation of Carbon Flux through Central Metabolism and the Kinetic Consequences for Glucose-Limited Chemostat Cultures of *Corynebacterium glutamicum*. *Appl Environ Microbiol.* 62, 429-36.
- Cotter, P. D., Hill, C., 2003. Surviving the acid test: responses of gram-positive bacteria to low pH. *Microbiol Mol Biol Rev.* 67, 429-53, table of contents.
- Datta, A. R., Benjamin, M. M., 1997. Factors controlling acid tolerance of *Listeria monocytogenes*: effects of nisin and other ionophores. *Appl Environ Microbiol.* 63, 4123-6.

- Dominguez, H., Nezondet, C., Lindley, N. D., Coccagn, M., 1993. Modified carbon flux during oxygen limited growth of *Corynebacterium glutamicum* and the consequences for amino acid overproduction. *Biotechnology Letters*. 15, 449-454.
- Eggeling, L., Bott, M., 2005. *Handbook of Corynebacterium glutamicum*. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press, Taylor & Francis Group.
- Eikmanns, B. J., Kleinertz, E., Liebl, W., Sahm, H., 1991. A family of *Corynebacterium glutamicum*/*Escherichia coli* shuttle vectors for cloning, controlled gene expression, and promoter probing. *Gene*. 102, 93-8.
- Eisen, M. B., Spellman, P. T., Brown, P. O., Botstein, D., 1998. Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 95, 14863-8.
- Erdmann, A., Weil, B., Krämer, B., 1993. Lysine secretion by wild-type *Corynebacterium glutamicum* triggered by dipeptide uptake. *J Gen Microbiol*. 139, 3115-3122.
- Follmann, M., Becker, M., Ochrombel, I., Ott, V., Krämer, R., Marin, K., 2009a. Potassium transport in *Corynebacterium glutamicum* is facilitated by the putative channel protein CgIK, which is essential for pH homeostasis and growth at acidic pH. *J Bacteriol*. 191, 2944-52.
- Follmann, M., Ochrombel, I., Krämer, R., Trötschel, C., Pötsch, A., Rückert, C., Huser, A., Persicke, M., Seifert, D., Kalinowski, J., Marin, K., 2009b. Functional genomics of pH homeostasis in *Corynebacterium glutamicum* revealed novel links between pH response, oxidative stress, iron homeostasis and methionine synthesis. *BMC Genomics*. 10, 621.
- Frunzke, J., Engels, V., Hasenbein, S., Gätgens, C., Bott, M., 2008. Co-ordinated regulation of gluconate catabolism and glucose uptake in *Corynebacterium glutamicum* by two functionally equivalent transcriptional regulators, GntR1 and GntR2. *Mol Microbiol*. 67, 305-22.
- Frunzke, J., Gätgens, C., Bocker, M., Bott, M., 2011. Control of heme homeostasis in *Corynebacterium glutamicum* by the two-component system HrrSA. *J Bacteriol*. 193, 1212-21.
- Fuchs, A. R., Bonde, G. J., 1957. The nutritional requirements of *Clostridium perfringens*. *J Gen Microbiol*. 16, 317-29.
- Garcia-Ochoa, F., Gomez, E., 2009. Bioreactor scale-up and oxygen transfer rate in microbial processes: An overview. *Biotechnol Adv*. 27, 153-76.
- Gerstmeir, R., Cramer, A., Dangel, P., Schaffer, S., Eikmanns, B. J., 2004. RamB, a novel transcriptional regulator of genes involved in acetate metabolism of *Corynebacterium glutamicum*. *J Bacteriol*. 186, 2798-809.
- Gerstmeir, R., Wendisch, V. F., Schnicke, S., Ruan, H., Farwick, M., Reinscheid, D., Eikmanns, B. J., 2003. Acetate metabolism and its regulation in *Corynebacterium glutamicum*. *J Biotechnol*. 104, 99-122.
- Grünberger, A., van Ooyen, J., Paczia, N., Rohe, P., Schiendzielorz, G., Eggeling, L., Wiechert, W., Kohlheyer, D., Noack, S., 2013. Beyond growth rate 0.6: *Corynebacterium glutamicum* cultivated in highly diluted environments. *Biotechnol Bioeng*. 110, 220-8.
- Gunsalus, R. P., Park, S. J., 1994. Aerobic-anaerobic gene regulation in *Escherichia coli*: control by the ArcAB and Fnr regulons. *Res Microbiol*. 145, 437-50.
- Gut, H., Pennacchietti, E., John, R. A., Bossa, F., Capitani, G., De Biase, D., Grutter, M. G., 2006. *Escherichia coli* acid resistance: pH-sensing, activation by chloride and autoinhibition in GadB. *EMBO J*. 25, 2643-51.
- Han, S. O., Inui, M., Yukawa, H., 2007. Expression of *Corynebacterium glutamicum* glycolytic genes varies with carbon source and growth phase. *Microbiology*. 153, 2190-202.
- Hanahan, D., 1983. Studies on transformation of *Escherichia coli* with plasmids. *J Mol Biol*. 166, 557-80.
- Hanahan, D., 1985. Techniques of Transformation of *E. coli*. In: Glover, D. M., (Ed.), *DNA-Cloning*. IRL-Press, pp. 109-135.

- Hänssler, E., Müller, T., Jessberger, N., Volzke, A., Plassmeier, J., Kalinowski, J., Krämer, R., Burkovski, A., 2007. FarR, a putative regulator of amino acid metabolism in *Corynebacterium glutamicum*. *Appl Microbiol Biotechnol.* 76, 625-32.
- Harold, F. M., Papineau, D., 1972. Cation transport and electrogenesis by *Streptococcus faecalis*. *J Membr Biol.* 8, 27-62.
- Harold, F. M., Pavlasova, E., Baarda, J. R., 1970. A transmembrane pH gradient in *Streptococcus faecalis*: origin, and dissipation by proton conductors and N,N'-dicyclohexylcarbodiimide. *Biochim Biophys Acta.* 196, 235-44.
- Hasegawa, S., Suda, M., Uematsu, K., Natsuma, Y., Hiraga, K., Jojima, T., Inui, M., Yukawa, H., 2013. Engineering of *Corynebacterium glutamicum* for high-yield L-valine production under oxygen deprivation conditions. *Appl Environ Microbiol.* 79, 1250-7.
- Hasegawa, S., Uematsu, K., Natsuma, Y., Suda, M., Hiraga, K., Jojima, T., Inui, M., Yukawa, H., 2012. Improvement of the redox balance increases L-valine production by *Corynebacterium glutamicum* under oxygen deprivation conditions. *Appl Environ Microbiol.* 78, 865-75.
- Hermann, T., 2003. Industrial production of amino acids by *coryneform* bacteria. *J Biotechnol.* 104, 155-72.
- Hermann, T., Krämer, R., 1996. Mechanism and Regulation of Isoleucine Excretion in *Corynebacterium glutamicum*. *Appl Environ Microbiol.* 62, 3238-44.
- Hüser, A. T., Becker, A., Brune, I., Dondrup, M., Kalinowski, J., Plassmeier, J., Pühler, A., Wiegrabe, I., Tauch, A., 2003. Development of a *Corynebacterium glutamicum* DNA microarray and validation by genome-wide expression profiling during growth with propionate as carbon source. *J Biotechnol.* 106, 269-86.
- Ikeda, M., Nakagawa, S., 2003. The *Corynebacterium glutamicum* genome: features and impacts on biotechnological processes. *Appl Microbiol Biotechnol.* 62, 99-109.
- Inui, M., Murakami, S., Okino, S., Kawaguchi, H., Vertes, A. A., Yukawa, H., 2004. Metabolic analysis of *Corynebacterium glutamicum* during lactate and succinate productions under oxygen deprivation conditions. *J Mol Microbiol Biotechnol.* 7, 182-96.
- Inui, M., Suda, M., Okino, S., Nonaka, H., Puskas, L. G., Vertes, A. A., Yukawa, H., 2007. Transcriptional profiling of *Corynebacterium glutamicum* metabolism during organic acid production under oxygen deprivation conditions. *Microbiology.* 153, 2491-504.
- Jackson, J. B., 2003. Proton translocation by transhydrogenase. *FEBS Lett.* 555, 176-7.
- Jakoby, M., Nolden, L., Meier-Wagner, J., Krämer, R., Burkovski, A., 2000. AmtR, a global repressor in the nitrogen regulation system of *Corynebacterium glutamicum*. *Mol Microbiol.* 37, 964-77.
- Jojima, T., Fujii, M., Mori, E., Inui, M., Yukawa, H., 2010. Engineering of sugar metabolism of *Corynebacterium glutamicum* for production of amino acid L-alanine under oxygen deprivation. *Appl Microbiol Biotechnol.* 87, 159-65.
- Jones, B. N., Gilligan, J. P., 1983. o-Phthaldialdehyde precolumn derivatization and reversed-phase high-performance liquid chromatography of polypeptide hydrolysates and physiological fluids. *J Chromatogr.* 266, 471-82.
- Kabus, A., Georgi, T., Wendisch, V. F., Bott, M., 2007a. Expression of the *Escherichia coli* *pntAB* genes encoding a membrane-bound transhydrogenase in *Corynebacterium glutamicum* improves L-lysine formation. *Appl Microbiol Biotechnol.* 75, 47-53.
- Kabus, A., Niebisch, A., Bott, M., 2007b. Role of cytochrome *bd* oxidase from *Corynebacterium glutamicum* in growth and lysine production. *Appl Environ Microbiol.* 73, 861-8.
- Kalinowski, J., Bathe, B., Bartels, D., Bischoff, N., Bott, M., Burkovski, A., Dusch, N., Eggeling, L., Eikmanns, B. J., Gaigalat, L., Goesmann, A., Hartmann, M., Huthmacher, K., Krämer, R., Linke, B., McHardy, A. C., Meyer, F., Möckel, B., Pfefferle, W., Pühler, A., Rey, D. A., Rückert, C., Rupp, O., Sahm, H., Wendisch, V. F., Wiegrabe, I., Tauch, A., 2003. The complete *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032 genome sequence and its impact on the production of L-aspartate-derived amino acids and vitamins. *J Biotechnol.* 104, 5-25.

- Kang, Y., Weber, K. D., Qiu, Y., Kiley, P. J., Blattner, F. R., 2005. Genome-wide expression analysis indicates that FNR of *Escherichia coli* K-12 regulates a large number of genes of unknown function. *J Bacteriol.* 187, 1135-60.
- Kashket, E. R., Barker, S. L., 1977. Effects of potassium ions on the electrical and pH gradients across the membrane of *Streptococcus lactis* cells. *J Bacteriol.* 130, 1017-23.
- Khodursky, A. B., Peter, B. J., Cozzarelli, N. R., Botstein, D., Brown, P. O., Yanofsky, C., 2000. DNA microarray analysis of gene expression in response to physiological and genetic changes that affect tryptophan metabolism in *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 97, 12170-5.
- Kim, T. H., Park, J. S., Kim, H. J., Kim, Y., Kim, P., Lee, H. S., 2005. The *whcE* gene of *Corynebacterium glutamicum* is important for survival following heat and oxidative stress. *Biochem Biophys Res Commun.* 337, 757-64.
- Kinoshita, S., 2005. A Short history of the Birth of the Amino Acid Industry in Japan. In *Handbook of Corynebacterium glutamicum*. Eggeling, L. and Bott, M. (eds). Boca Taton, Florida, USA: CRC Press, Taylor & Francis Group, pp. 616.
- Kinoshita, S., Uda, K., Shimono, M., 1957. Studies on the amino acid fermentation I: Production of L-glutamic acid by various microorganisms. *J Gen Appl Microbiol.* 3, 193-205.
- Kobayashi, H., Suzuki, T., Unemoto, T., 1986. Streptococcal cytoplasmic pH is regulated by changes in amount and activity of a proton-translocating ATPase. *J Biol Chem.* 261, 627-30.
- Kobayashi, H., Unemoto, T., 1980. *Streptococcus faecalis* mutants defective in regulation of cytoplasmic pH. *J Bacteriol.* 143, 1187-93.
- Kocan, M., Schaffer, S., Ishige, T., Sorger-Herrmann, U., Wendisch, V. F., Bott, M., 2006. Two-component systems of *Corynebacterium glutamicum*: deletion analysis and involvement of the PhoS-PhoR system in the phosphate starvation response. *J Bacteriol.* 188, 724-32.
- Koch-Körffges, A., Kabus, A., Ochrombel, I., Marin, K., Bott, M., 2012. Physiology and global gene expression of a *Corynebacterium glutamicum* ΔF_1F_0 -ATP synthase mutant devoid of oxidative phosphorylation. *Biochim Biophys Acta.* 1817, 370-80.
- Koch-Körffges, A., Pfeiler, N., Platen, L., Oldiges, M., Bott, M., 2013. Conversion of *Corynebacterium glutamicum* from an aerobic respiring to an aerobic fermenting bacterium by inactivation of the respiratory chain. *Biochim Biophys Acta.*
- Koebmann, B. J., Westerhoff, H. V., Snoep, J. L., Nilsson, D., Jensen, P. R., 2002a. The glycolytic flux in *Escherichia coli* is controlled by the demand for ATP. *J Bacteriol.* 184, 3909-16.
- Koebmann, B. J., Westerhoff, H. V., Snoep, J. L., Solem, C., Pedersen, M. B., Nilsson, D., Michelsen, O., Jensen, P. R., 2002b. The extent to which ATP demand controls the glycolytic flux depends strongly on the organism and conditions for growth. *Mol Biol Rep.* 29, 41-5.
- Kroll, R. G., Booth, I. R., 1981. The role of potassium transport in the generation of a pH gradient in *Escherichia coli*. *Biochem J.* 198, 691-8.
- Landwall, P., Holme, T., 1977. Influence of glucose and dissolved oxygen concentrations on yields of *Escherichia coli* B in dialysis culture. *J Gen Microbiol.* 103, 353-8.
- Laubinger, W., Dimroth, P., 1987. Characterization of the Na^+ -stimulated ATPase of *Propionigenium modestum* as an enzyme of the F_1F_0 type. *Eur J Biochem.* 168, 475-80.
- Lewinson, O., Padan, E., Bibi, E., 2004. Alkalitolerance: a biological function for a multidrug transporter in pH homeostasis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 101, 14073-8.
- Liebl, W., 2006. *Corynebacterium* - Nonmedical. *Prokaryotes.* 3, 796_818.
- Lindroth, P., Mopper, K., 1979. High performance liquid chromatographic determination of subpicomole amounts of amino acids by precolumn fluorescence derivatization with *o*-phthaldialdehyde. *Anal Chem.* 51, 1667-1674.
- Litsanov, B., Brocker, M., Bott, M., 2012a. Toward homosuccinate fermentation: metabolic engineering of *Corynebacterium glutamicum* for anaerobic production of succinate from glucose and formate. *Appl Environ Microbiol.* 78, 3325-37.
- Litsanov, B., Kabus, A., Brocker, M., Bott, M., 2012b. Efficient aerobic succinate production from glucose in minimal medium with *Corynebacterium glutamicum*. *Microb Biotechnol.* 5, 116-28.

- Luli, G. W., Strohl, W. R., 1990. Comparison of growth, acetate production, and acetate inhibition of *Escherichia coli* strains in batch and fed-batch fermentations. *Appl Environ Microbiol.* 56, 1004-11.
- Ma, Y., Marquis, R. E., 1997. Thermophysiology of *Streptococcus mutans* and related lactic-acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 72, 91-100.
- Marienhagen, J., Eggeling, L., 2008. Metabolic function of *Corynebacterium glutamicum* aminotransferases AlaT and AvtA and impact on L-valine production. *Appl Environ Microbiol.* 74, 7457-62.
- Marienhagen, J., Kennerknecht, N., Sahm, H., Eggeling, L., 2005. Functional analysis of all aminotransferase proteins inferred from the genome sequence of *Corynebacterium glutamicum*. *J Bacteriol.* 187, 7639-46.
- Maurer, L. M., Yohannes, E., Bondurant, S. S., Radmacher, M., Slonczewski, J. L., 2005. pH regulates genes for flagellar motility, catabolism, and oxidative stress in *Escherichia coli* K-12. *J Bacteriol.* 187, 304-19.
- Miesenböck, G., De Angelis, D. A., Rothman, J. E., 1998. Visualizing secretion and synaptic transmission with pH-sensitive *green fluorescent proteins*. *Nature.* 394, 192-5.
- Molenaar, D., van der Rest, M. E., Drysch, A., Yucel, R., 2000. Functions of the membrane-associated and cytoplasmic malate dehydrogenases in the citric acid cycle of *Corynebacterium glutamicum*. *J Bacteriol.* 182, 6884-91.
- Molenaar, D., van der Rest, M. E., Petrovic, S., 1998. Biochemical and genetic characterization of the membrane-associated malate dehydrogenase (acceptor) from *Corynebacterium glutamicum*. *Eur J Biochem.* 254, 395-403.
- Moritz, B., Striegel, K., De Graaf, A. A., Sahm, H., 2000. Kinetic properties of the glucose-6-phosphate and 6-phosphogluconate dehydrogenases from *Corynebacterium glutamicum* and their application for predicting pentose phosphate pathway flux *in vivo*. *Eur J Biochem.* 267, 3442-52.
- Mullis, K. B., Faloona, F. A., 1987. Specific synthesis of DNA *in vitro* via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol.* 155, 335-50.
- Mustafi, N., Grünberger, A., Kohlheyer, D., Bott, M., Frunzke, J., 2012. The development and application of a single-cell biosensor for the detection of L-methionine and branched-chain amino acids. *Metab Eng.* 14, 449-57.
- Neidhardt, F. C., Ingraham, J. L., Schaechter, M., 1990. *Physiology of the Bacterial Cell: A Molecular Approach*. Sinauer Associates Inc., U.S.
- Niebisch, A., Bott, M., 2003. Purification of a cytochrome *bc-aa₃* supercomplex with quinol oxidase activity from *Corynebacterium glutamicum*. Identification of a fourth subunit of cytochrome *aa₃* oxidase and mutational analysis of diheme cytochrome *c₁*. *J Biol Chem.* 278, 4339-46.
- Nishimura, T., Teramoto, H., Inui, M., Yukawa, H., 2011. Gene expression profiling of *Corynebacterium glutamicum* during Anaerobic nitrate respiration: induction of the SOS response for cell survival. *J Bacteriol.* 193, 1327-33.
- Nishimura, T., Teramoto, H., Vertes, A. A., Inui, M., Yukawa, H., 2008. ArnR, a novel transcriptional regulator, represses expression of the *narkGHJ* operon in *Corynebacterium glutamicum*. *J Bacteriol.* 190, 3264-73.
- Nishimura, T., Vertes, A. A., Shinoda, Y., Inui, M., Yukawa, H., 2007. Anaerobic growth of *Corynebacterium glutamicum* using nitrate as a terminal electron acceptor. *Appl Microbiol Biotechnol.* 75, 889-97.
- Nolden, L., Ngouoto-Nkili, C. E., Bendt, A. K., Krämer, R., Burkovski, A., 2001. Sensing nitrogen limitation in *Corynebacterium glutamicum*: the role of *glnK* and *glnD*. *Mol Microbiol.* 42, 1281-95.
- Ochrombel, I., Ott, L., Krämer, R., Burkovski, A., Marin, K., 2011. Impact of improved potassium accumulation on pH homeostasis, membrane potential adjustment and survival of *Corynebacterium glutamicum*. *Biochim Biophys Acta.* 1807, 444-50.

- Ohnishi, J., Katahira, R., Mitsuhashi, S., Kakita, S., Ikeda, M., 2005. A novel *gnd* mutation leading to increased L-lysine production in *Corynebacterium glutamicum*. FEMS Microbiol Lett. 242, 265-74.
- Okino, S., Inui, M., Yukawa, H., 2005. Production of organic acids by *Corynebacterium glutamicum* under oxygen deprivation. Appl Microbiol Biotechnol. 68, 475-80.
- Okino, S., Noburyu, R., Suda, M., Jojima, T., Inui, M., Yukawa, H., 2008a. An efficient succinic acid production process in a metabolically engineered *Corynebacterium glutamicum* strain. Appl Microbiol Biotechnol. 81, 459-64.
- Okino, S., Suda, M., Fujikura, K., Inui, M., Yukawa, H., 2008b. Production of D-lactic acid by *Corynebacterium glutamicum* under oxygen deprivation. Appl Microbiol Biotechnol. 78, 449-54.
- Omumasaba, C. A., Okai, N., Inui, M., Yukawa, H., 2004. *Corynebacterium glutamicum* glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase isoforms with opposite, ATP-dependent regulation. J Mol Microbiol Biotechnol. 8, 91-103.
- Ormö, M., Cubitt, A. B., Kallio, K., Gross, L. A., Tsien, R. Y., Remington, S. J., 1996. Crystal structure of the *Aequorea victoria* green fluorescent protein. Science. 273, 1392-5.
- Padan, E., Bibi, E., Ito, M., Krulwich, T. A., 2005. Alkaline pH homeostasis in bacteria: new insights. Biochim Biophys Acta. 1717, 67-88.
- Perez-Jimenez, R., Garcia-Manyes, S., Ainarapu, S. R., Fernandez, J. M., 2006. Mechanical unfolding pathways of the enhanced yellow fluorescent protein revealed by single molecule force spectroscopy. J Biol Chem. 281, 40010-4.
- Peters-Wendisch, P. G., Schiel, B., Wendisch, V. F., Katsoulidis, E., Mockel, B., Sahm, H., Eikmanns, B. J., 2001. Pyruvate carboxylase is a major bottleneck for glutamate and lysine production by *Corynebacterium glutamicum*. J Mol Microbiol Biotechnol. 3, 295-300.
- Petersen, S., de Graaf, A. A., Eggeling, L., Mollney, M., Wiechert, W., Sahm, H., 2000. *In vivo* quantification of parallel and bidirectional fluxes in the anaplerosis of *Corynebacterium glutamicum*. J Biol Chem. 275, 35932-41.
- Qi, S. W., Chaudhry, M. T., Zhang, Y., Meng, B., Huang, Y., Zhao, K. X., Pötsch, A., Jiang, C. Y., Liu, S., Liu, S. J., 2007. Comparative proteomes of *Corynebacterium glutamicum* grown on aromatic compounds revealed novel proteins involved in aromatic degradation and a clear link between aromatic catabolism and gluconeogenesis via fructose-1,6-bisphosphatase. Proteomics. 7, 3775-87.
- Quivey, R. G., Jr., Faustoferri, R., Monahan, K., Marquis, R., 2000. Shifts in membrane fatty acid profiles associated with acid adaptation of *Streptococcus mutans*. FEMS Microbiol Lett. 189, 89-92.
- Rao, M., Streur, T. L., Aldwell, F. E., Cook, G. M., 2001. Intracellular pH regulation by *Mycobacterium smegmatis* and *Mycobacterium bovis* BCG. Microbiology. 147, 1017-24.
- Repaske, D. R., Adler, J., 1981. Change in intracellular pH of *Escherichia coli* mediates the chemotactic response to certain attractants and repellents. J Bacteriol. 145, 1196-208.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F., Maniatis, 1989a. Molecular Cloning. A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sambrook, J., P., M., D., R., 1989b. Molecular Cloning. A Laboratory Manual. . Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sauer, U., Canonaco, F., Heri, S., Perrenoud, A., Fischer, E., 2004. The soluble and membrane-bound transhydrogenases UdhA and PntAB have divergent functions in NADPH metabolism of *Escherichia coli*. J Biol Chem. 279, 6613-9.
- Schäfer, A., Tauch, A., Jäger, W., Kalinowski, J., Thierbach, G., Pühler, A., 1994. Small mobilizable multi-purpose cloning vectors derived from the *Escherichia coli* plasmids pK18 and pK19: selection of defined deletions in the chromosome of *Corynebacterium glutamicum*. Gene. 145, 69-73.

- Schirawski, J., Unden, G., 1998. Menaquinone-dependent succinate dehydrogenase of bacteria catalyzes reversed electron transport driven by the proton potential. *Eur J Biochem.* 257, 210-5.
- Schreiner, M. E., Fiur, D., Holatko, J., Patek, M., Eikmanns, B. J., 2005. E1 enzyme of the pyruvate dehydrogenase complex in *Corynebacterium glutamicum*: molecular analysis of the gene and phylogenetic aspects. *J Bacteriol.* 187, 6005-18.
- Schwarzer, A., Pühler, A., 1991. Manipulation of *Corynebacterium glutamicum* by gene disruption and replacement. *Biotechnology (N Y)*. 9, 84-7.
- Schweitzer, J. E., Stolz, M., Diesveld, R., Etterich, H., Eggeling, L., 2009. The serine hydroxymethyltransferase gene *glyA* in *Corynebacterium glutamicum* is controlled by GlyR. *J Biotechnol.* 139, 214-21.
- Sekine, H., Shimada, T., Hayashi, C., Ishiguro, A., Tomita, F., Yokota, A., 2001. H⁺-ATPase defect in *Corynebacterium glutamicum* abolishes glutamic acid production with enhancement of glucose consumption rate. *Appl Microbiol Biotechnol.* 57, 534-40.
- Shalon, D., Smith, S. J., Brown, P. O., 1996. A DNA microarray system for analyzing complex DNA samples using two-color fluorescent probe hybridization. *Genome Res.* 6, 639-45.
- Shen, X. H., Liu, Z. P., Liu, S. J., 2004. Functional identification of the gene locus (ncg12319) and characterization of catechol 1,2-dioxygenase in *Corynebacterium glutamicum*. *Biotechnol Lett.* 26, 575-80.
- Shimomura, O., Johnson, F. H., Saiga, Y., 1962. Extraction, purification and properties of aequorin, a bioluminescent protein from the luminous hydromedusan, *Aequorea*. *J Cell Comp Physiol.* 59, 223-39.
- Stansen, C., Uy, D., Delaunay, S., Eggeling, L., Goergen, J. L., Wendisch, V. F., 2005. Characterization of a *Corynebacterium glutamicum* lactate utilization operon induced during temperature-triggered glutamate production. *Appl Environ Microbiol.* 71, 5920-8.
- Suzuki, T., Shibata, C., Yamaguchi, A., Igarashi, K., Kobayashi, H., 1993. Complementation of an *Enterococcus hirae* (*Streptococcus faecalis*) mutant in the alpha subunit of the H⁺-ATPase by cloned genes from the same and different species. *Mol Microbiol.* 9, 111-8.
- Takeno, S., Ohnishi, J., Komatsu, T., Masaki, T., Sen, K., Ikeda, M., 2007. Anaerobic growth and potential for amino acid production by nitrate respiration in *Corynebacterium glutamicum*. *Appl Microbiol Biotechnol.* 75, 1173-82.
- Tsuchiya, T., Wilson, T. H., 1978. Cation-sugar cotransport in the melibiose transport system of *Escherichia coli*. *Membr Biochem.* 2, 63-79.
- Udaka, S., 1960. Screening method for microorganisms accumulating metabolites and its use in the isolation of *Micrococcus glutamicus*. *J Bacteriol.* 79, 754-5.
- van der Rest, M. E., Lange, C., Molenaar, D., 1999. A heat shock following electroporation induces highly efficient transformation of *Corynebacterium glutamicum* with xenogeneic plasmid DNA. *Appl Microbiol Biotechnol.* 52, 541-5.
- Vogt, M., Haas, S., Klaffl, S., Polen, T., Eggeling, L., Ooyen, J. V., Bott, M., 2013. Pushing product formation to its limit: Metabolic engineering of *Corynebacterium glutamicum* for l-leucine overproduction. *Metab Eng.*
- Wendisch, V. F., Spies, M., Reinscheid, D. J., Schnicke, S., Sahm, H., Eikmanns, B. J., 1997. Regulation of acetate metabolism in *Corynebacterium glutamicum*: transcriptional control of the isocitrate lyase and malate synthase genes. *Arch Microbiol.* 168, 262-9.
- Wendisch, V. F., Zimmer, D. P., Khodursky, A., Peter, B., Cozzarelli, N., Kustu, S., 2001. Isolation of *Escherichia coli* mRNA and comparison of expression using mRNA and total RNA on DNA microarrays. *Analytical biochemistry.* 290, 205-13.
- Wilson, T. H., Lin, E. C., 1980. Evolution of membrane bioenergetics. *J Supramol Struct.* 13, 421-46.
- Zittrich, S., Krämer, R., 1994. Quantitative discrimination of carrier-mediated excretion of isoleucine from uptake and diffusion in *Corynebacterium glutamicum*. *J Bacteriol.* 176, 6892-9.
- Zumft, W. G., 1997. Cell biology and molecular basis of denitrification. *Microbiol Mol Biol Rev.* 61, 533-616

Anhang

Restriktionskarte des konstruierten Plasmids

pAN6_*udhA*

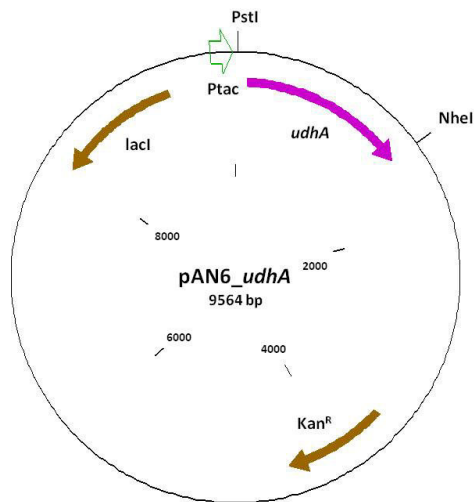


Abbildung 33: Plasmidkarte von pAN6_*udhA*. Das Plasmid enthält ein 1651-bp-PCR-Produkt (Primer UdhA_f2 und UdhA_r2) zwischen der PstI- und der NheI-Schnittstelle, das für das native *udhA*-Gen aus *E. coli* kodiert.

Tabelle 18: Auflistung aller signifikant veränderter Gene aus den Transkriptomexperimenten. Das mRNA-Verhältnis von 10 Minuten anaerob vs. aerob wurde in drei biologisch unabhängigen Replikaten festgestellt. Der Durchschnitt der mRNA-Verhältnisse wurde mit n Replikaten errechnet.

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg0004	<i>dnaN</i>	DNA-Polymerase III Untereinheit beta	0,431	0,543	0,267	0,397	3	0,033
cg0010		hypothetisches Protein, konserviert	0,235	0,303	0,274	0,269	3	0,002
cg0021		hypothetisches Protein	1,228	1,274		1,251	2	0,011
cg0053		putativer siderophor ABC-Transporter, ATP-bindendes Protein	1,565	1,384	1,371	1,437	3	
cg0073		Sulfur-Transferase	1,414	1,268		1,339	2	0,038
cg0104	<i>codA</i>	Creatinin-Deaminase		1,602	1,855	1,724	2	0,033
cg0116	<i>ureE</i>	Ureaseaccessorprotein	1,815	1,734	2,181	1,900	3	0,004
cg0124	<i>amn</i>	AMP Nucleosidase	0,591	0,308	0,200	0,332	3	0,047
cg0141		putative Glyoxalase/bleomycinresistentes Protein/Dioxygenase	0,752	0,604	0,674	0,674	3	0,032
cg0149	<i>panB</i>	3-Methyl-2-Oxobutanoylhydroxymethyl-Transferase	0,410	0,502	0,629	0,506	3	0,025
cg0159		hypothetisches Protein	1,126	1,067		1,096	2	0,031
cg0161		putatives Membranprotein	0,362	0,629	0,283	0,401	3	0,042
cg0162		putatives membrandurchspannendes Protein	1,517	1,520	1,972	1,657	3	0,008
cg0163		putative N-Acetylglucosaminyl-Transferase	1,186	1,785	2,805	1,811	3	0,047
cg0166		putatives Protein, konserviert	1,583	1,046	1,644	1,396	3	0,039
cg0175		putatives sekretierendes Protein, Signalpeptid	1,273	1,248		1,261	2	0,002
cg0181		DNA-Reparaturprotein	1,157	1,187		1,172	2	0,006
cg0199	<i>iolA</i>	Myo-Inositol Katabolismus, Aldehyd-Dehydrogenase	2,046	3,333	10,474	4,149	3	0,041
cg0212		putative Phosphat-Isomerase/Epimerase	1,508	1,190	1,149	1,273	3	0,021
cg0233		hypothetisches Protein, konserviert	0,169	0,333	0,299	0,256	3	0,015
cg0239		hypothetisches Protein	0,317	0,328	0,621	0,401	3	0,037
cg0249		putatives Polysaccharid/Polylphosphatexportsystem, Permeasekomponente	0,245	0,353	0,163	0,242	3	0,015
cg0259	<i>moaB</i>	Molybdopterin-Cofaktor-Biosyntheseprotein, Mog-Familie	1,169	1,722	1,869	1,556	3	0,027
cg0289	<i>glxX</i>	Glutamyl-tRNA-Synthetase	1,421	1,418	1,250	1,360	3	0,004
cg0291		putative 3,4-Dioxygenase beta Untereinheit	1,030	1,075	1,353	1,145	3	0,037
cg0296	<i>dnaZX</i>	DNA-Polymerase III Untereinheit gamma und tau	0,588	0,621	0,585	0,598	3	0,001
cg0300		putative Tripeptid-Synthase involviert in der Mureinformation	0,534	0,605	0,352	0,485	3	0,037
cg0319	<i>arsC2</i>	Arsenat-Reductase	1,240	1,197		1,218	2	0,011
cg0323		konserviertes hypothetisches sekretierendes Protein	1,400	1,852	3,072	1,997	3	0,033
cg0325		konserviertes hypothetisches sekretierendes Protein	1,272	3,320	1,886	1,997	3	0,046
cg0346	<i>fadE</i>	Glutaryl-CoA-Dehydrogenase	2,109	1,765		1,930	2	0,034
cg0349		putatives Metallo-beta-Lactamase superFamilie Protein	0,613	0,367	0,435	0,461	3	0,027
cg0358		putative Hydrolase oder Acyltransferase	0,560	0,613	0,634	0,601	3	0,005
cg0359		putatives Membranprotein	0,448	0,499	0,380	0,440	3	0,007
cg0365		putatives Membranprotein	2,196	1,283	2,392	1,889	3	0,028
cg0374		hypothetisches Protein, konserviert	1,166	1,224	1,922	1,399	3	0,045
cg0387	<i>adhE</i>	Zink-Typ Alcohol-Dehydrogenasetransmembranprotein	0,666	0,523	0,526	0,568	3	0,018
cg0391	<i>rmlB2</i>	putative dTDP-Glucose 4,6-dehydrogenase	0,327	0,291	0,234	0,281	3	0,004
cg0393		putatives Membranprotein, konserviert	0,390	0,590	0,382	0,445	3	0,022
cg0398		hypothetisches Protein	0,681	0,530	0,384	0,517	3	0,047
cg0400	<i>adhC</i>	Alcohol-Dehydrogenase, Klasse C	0,486	0,645	0,711	0,606	3	0,047
cg0403	<i>rmlB1</i>	dTDP-Glucose 4,6-Dehydrogenase	0,114	0,277	0,100	0,147	3	0,016
cg0413	<i>cmt1</i>	Trehalosecorynomycyl-Transferase	0,176	0,494	0,354	0,313	3	0,040
cg0419		putative Glycosyl-Transferase	2,248	1,334	2,214	1,880	3	0,022
cg0437		putatives Membranprotein, in der Polysaccharidpolymerisation involviert	0,408	0,300	0,380	0,360	3	0,006
cg0438		putative Glycosyl-Transferase	0,248	0,225	0,077	0,162	3	0,024
cg0441	<i>lpd</i>	Dihydrolipoamid-Dehydrogenase	0,603	0,524	0,754	0,620	3	0,046
cg0444	<i>ramB</i>	Transkriptionsregulator, involviert im Acetatmetabolismus, MerR-Familie	0,072	0,197	0,050	0,089	3	0,016
cg0447	<i>sdhB</i>	Succinat-Menaquinon-Oxidoreductase, Eisen-Schwefel Protein Untereinheit	2,243	2,775	2,401	2,464	3	0,002
cg0448		putatives Membranprotein, konserviert	1,749	2,895	2,468	2,320	3	0,011
cg0452		hypothetisches Protein	0,442	0,594	0,681	0,563	3	0,041
cg0454		Transkriptionsregulator, TetR-Familie		1,071	1,008	1,039	2	0,046
cg0456		putative Permease	1,562	1,151	1,415	1,365	3	0,017

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg0472		hypothetisches Protein, konserviert	0,380	0,382	0,209	0,312	3	0,019
cg0475		hypothetisches Protein, konserviert	0,680	0,558	0,727	0,651	3	0,037
cg0483	<i>cgtR4</i>	Zweikomponenten-Sensor-Kinase	1,124	1,464	1,546	1,365	3	0,021
cg0500		Transkriptionsregulator, LysR-Familie	0,714	0,566	0,569	0,612	3	0,024
cg0504		NAD-abhängiges Quinon-Dehydrogenase	1,420	0,999	1,218	1,200	3	0,040
cg0505		putatives Ribosomalprotein, L7/L12-Familie	1,597		1,383	1,486	2	0,041
cg0508		putativer ABC-Typ Supermidin/Putrescin/Eisen-Transporter, substratbindendes Lipoprotein	0,523	0,694	0,508	0,569	3	0,027
cg0512	<i>hemB</i>	Delta-aminolevulinäure-Dehydratase, in Heme-Biosynthese involviert	0,525	0,651	0,544	0,571	3	0,013
cg0537		putativer Transkriptionsregulator, LysR-Familie	2,664	2,338	5,112	3,169	3	0,016
cg0548	<i>menB</i>	Napththoat-Synthase	0,442	0,516	0,709	0,545	3	0,042
cg0556	<i>ubfE</i>	Ubiquinone/Menaquinonebiosynthesemethyl-Transferase	0,510	0,397	0,248	0,369	3	0,029
cg0559	<i>ispB</i>	putatives Octaprenyl-diphosphat-Synthaseprotein	0,122	0,310	0,090	0,150	3	0,021
cg0573	<i>rplL</i>	50S Ribosomalprotein L7/L12	1,017	1,253	1,138	1,132	3	0,021
cg0589		putativer Siderophor-ABC-Transporter, ATP-bindendes Protein	1,385	1,458	1,869	1,557	3	0,011
cg0604	<i>rpsQ</i>	30S Ribosomalprotein S17		2,822	2,056	2,408	2	0,048
cg0621		putativer Cobalamin-ECT-Transporter, Substrat-spezifische Komponente	1,200	1,449	1,989	1,512	3	0,030
cg0625		putatives sekretiertes Protein	0,435	0,396	0,203	0,327	3	0,029
cg0646		putativer Transkriptionsregulator, IclR-Familie	1,162	1,558	1,871	1,502	3	0,028
cg0647	<i>secY</i>	Preprotein-Translocase, Untereinheit	0,398	0,550	0,316	0,411	3	0,022
cg0648	<i>adk</i>	Adenylat-Kinase	0,544	0,691	0,735	0,651	3	0,049
cg0679		hypothetisches Protein, konserviert	1,909	1,558		1,725	2	0,046
cg0683		putative Permease		3,295	5,021	4,068	2	0,043
cg0687	<i>gpc</i>	putative O-Sialoglycoproteinendo-Peptidase	3,170	1,738	2,037	2,239	3	0,017
cg0700	<i>guaB 3</i>	Inositol-5-monophosphat-Dehydrogenase	0,723	0,419	0,440	0,511	3	0,049
cg0711		putatives Membranprotein	0,533	0,649	0,477	0,548	3	0,019
cg0722		putativer Exporter, RND Superfamilie	0,963	1,050	1,039	1,017	3	0,011
cg0754	<i>metA</i>	Homoserine-O-acetyl-Transferase	0,133	0,554	0,136	0,215	3	0,050
cg0755	<i>metY</i>	O-Acetylhomoserinsulf-Hydrylase	0,324	0,441	0,130	0,265	3	0,043
cg0765		putatives sekretierendes Protein	0,402	0,459	0,721	0,510	3	0,050
cg0767		putatives cytoplasmatisches Siderophore-interagierendes Protein	1,307	1,236	2,073	1,496	3	0,038
cg0773		putative Exodeoxyribo-Nuclease	0,363	0,351	0,199	0,294	3	0,016
cg0783		hypothetisches Protein, konserviert	0,063	0,152	0,014	0,051	3	0,028
cg0786	<i>upp</i>	Uracylphosphoribosyl-Transferase	0,281	0,397	0,382	0,349	3	0,007
cg0787		putativer Transkriptionsregulator, HTH 3-Familie	0,595	0,451	0,354	0,456	3	0,026
cg0790	<i>lpdA</i>	Dihydrolipoamid-Dehydrogenase	0,216	0,549	0,382	0,357	3	0,042
cg0792		putatives Protein mit Thioredoxinomäne	1,051	1,081	0,914	1,013	3	0,041
cg0794		Cobalaminsyntheseprotein/P47K	1,204	1,137		1,170	2	0,026
cg0795		putative FAD-abhängige Pyridinonucleotiddisulphidoxido-Reductase	1,160	1,246		1,202	2	0,031
cg0800		Transkriptionsaktivator des Propionatcatabolismus, MerR/HTH 3-Familie	0,428	0,414	0,205	0,331	3	0,029
cg0809		putatives Maf-ähnliches Protein	0,254	0,583	0,279	0,345	3	0,037
cg0812	<i>dtsR1</i>	Acetyl/Propionyl-CoA-Carboxylase, beta Untereinheit	0,220	0,389	0,341	0,308	3	0,014
cg0816	<i>purK</i>	Phosphoribosylaminoimidazol-Carboxylase	0,577	0,409	0,281	0,405	3	0,035
cg0820	<i>purE</i>	Phosphoribosylaminoimidazol-Carboxylase, katalytische Untereinheit	0,341	0,407	0,648	0,448	3	0,039
cg0832	<i>tusF</i>	Trehaloseaufnahmesystem, ABC-Typ, membranbrandurchspannendes Protein	0,201	0,583	0,343	0,343	3	0,049
cg0842		putative DNA-Helicase	1,332	2,014	2,211	1,810	3	0,020
cg0844		putatives Typ II Restriktionsenzym, Methylaseuntereinheit	1,198	1,817	2,782	1,823	3	0,045
cg0845		putative Superfamilie II DNA/RNA-Helicase, SNF2-Familie	0,163	0,315	0,147	0,196	3	0,013
cg0855		hypothetisches Protein, konserviert	0,434	0,466	0,559	0,483	3	0,008
cg0856	<i>manA</i>	Mannose-6-phosphat-Isomerase	0,401	0,328	0,275	0,331	3	0,006
cg0866		Purine/Pyrimidinphosphoribosyl-Transferase	1,034	1,070		1,052	2	0,019

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg0870		putative Haloacid-Dehalogenase/Epoxidhydratase Familie	0,287	0,605	0,464	0,432	3	0,044
cg0871		hypothetisches Protein, konserviert	0,353	0,602	0,474	0,465	3	0,029
cg0877		putativer Anti-sigma Faktor	0,652	0,557	0,365	0,510	3	0,048
cg0878	<i>whcE</i>	Transkriptionsregulator, WhiB-Homolog	0,236	0,288	0,118	0,200	3	0,016
cg0890		hypothetisches Protein, konserviert	1,198	1,296		1,246	2	0,032
cg0895		hypothetisches Protein cg0895	0,757	0,716	0,748	0,740	3	0,004
cg0898	<i>pdxS</i>	Pyridoxal-5'-Phosphat-PLP-Synthase Untereinheit	0,267	0,614	0,290	0,363	3	0,042
cg0899	<i>pdxT</i>	Pyridoxal-5'-Phosphat-PLP-Synthase Untereinheit, Glutamin-Amino-Transferase	0,233	0,458	0,465	0,367	3	0,033
cg0907		hypothetisches Protein	1,691		1,756	1,723	2	0,006
cg0910		L-histidin-3-phosphat-Phosphatase	0,330	0,466	0,448	0,410	3	0,011
cg0915	<i>ftsX</i>	putatives Zellteilungprotein, FtsX-Familie	0,127	0,454	0,215	0,231	3	0,036
cg0918		putative Uroporphyrin-III C-Methyl-Transferase	0,701	0,567	0,677	0,646	3	0,025
cg0919	<i>tnp18a</i>	Transposase	1,631	1,248	1,230	1,358	3	0,018
cg0924		putativer ABC-Typ Eisen-Siderophor-Transporter, substratbindendes Lipoprotein	0,469	0,478	0,701	0,540	3	0,036
cg0928		putativer siderophore ABC-Transporter, ATP-bindendes Protein		2,140	2,497	2,312	2	0,024
cg0933		putative DNA- oder RNA-Helicase der Superfamilie II	0,407	0,368	0,444	0,405	3	0,002
cg0935		hypothetisches Protein, konserviert	0,649	0,382	0,423	0,472	3	0,033
cg0936	<i>rpj1</i>	Promotionsfaktor	0,430	0,083	0,073	0,138	3	0,043
cg0949	<i>gltA</i>	Citrat-Synthase	0,129	0,426	0,244	0,238	3	0,033
cg0950	<i>fkpA</i>	FKBP-Typ Peptidyl-prolyl-cis-trans-Isomerase	1,575	1,440	1,224	1,405	3	0,011
cg0952		putatives Integralmembranprotein	0,910	1,006	0,988	0,967	3	0,027
cg0958		putatives sekretierendes Protein	0,663	0,580	0,485	0,571	3	0,023
cg0970		putatives Membranprotein	0,412	0,370	0,593	0,448	3	0,023
cg0975		putative chorisomatische Mutase	0,379	0,609	0,464	0,475	3	0,025
cg0976	<i>pcrA</i>	ATP-abhängige Helicase PCRA	0,357	0,378	0,265	0,330	3	0,006
cg0977		putatives ABC-Typ Transportsystem, involviert in Lipoprotein Freilassung, Permeasekomponente	1,681	1,737	1,470	1,625	3	0,003
cg0980		putatives sekretierendes Protein, ähnlich zur Metalloendopeptidase	0,303	0,394	0,251	0,311	3	0,008
cg0986	<i>amtR</i>	Masterregulator der Stickstoffkontrolle, TetR-Familie	0,521	0,413	0,506	0,477	3	0,008
cg1000		hypothetisches Protein, konserviert		0,959	0,932	0,945	2	0,032
cg1002		putatives sekretierendes Protein, konserviert	1,829	1,774	3,478	2,243	3	0,024
cg1003		5-Formyltetrahydrofolat-cyclo-Ligase	1,985	2,183	3,928	2,572	3	0,018
cg1013		hypothetisches Protein	1,398	1,257		1,325	2	0,037
cg1037	<i>rpj2</i>	Faktor zur Wiederbelebung	0,321	0,509	0,249	0,344	3	0,024
cg1048		putative Haloacid-Dehalogenase/Epoxidhydratase Familie	0,247	0,324	0,293	0,286	3	0,002
cg1052	<i>cmt3</i>	Corynomycyltransferase	0,285	0,345	0,165	0,253	3	0,016
cg1053		Transkriptionsregulator, TetR-Familie	0,320	0,266	0,091	0,198	3	0,032
cg1057		hypothetisches Protein	1,258	1,272		1,265	2	0,000
cg1060	<i>prfC</i>	putativer Peptidkettenentfaltungsfaktor 3 EF-G	0,116	0,378	0,187	0,202	3	0,026
cg1069	<i>gapX</i>	Glyceraldehyde-3-phosphat-Dehydrogenase	0,319	0,469	0,288	0,351	3	0,013
cg1076	<i>glmU</i>	putativer UDP-N-Acetylglucosamin-Pyrophosphorylase	0,076	0,095	0,051	0,072	3	0,003
cg1080		putative Multikupfer-Oxidase	1,316	2,207	3,286	2,121	3	0,038
cg1081		putatives ABC-Typ Multidrugtransportsystem, ATPase-Komponente	1,334	2,561	3,475	2,281	3	0,037
cg1086		putatives Membranprotein	0,681	0,670	0,676	0,676	2	0,002
cg1091		hypothetisches Protein	0,500	0,352	0,399	0,413	3	0,010
cg1092		putatives sekretierendes Protein	0,435	0,517	0,512	0,486	3	0,005
cg1096		hypothetisches Protein	0,576	0,398	0,418	0,458	3	0,016
cg1100		putativer ABC-Transporter, Transmembrankomponente	2,263	1,398	1,430	1,654	3	0,026
cg1103		putatives Membranprotein	1,747	1,267	2,358	1,734	3	0,029
cg1108	<i>porC</i>	putatives sekretiertes Protein	0,189	0,158	0,246	0,195	3	0,004
cg1123	<i>greA</i>	Transcriptionelongationsfaktor	0,266	0,411	0,211	0,285	3	0,015
cg1127		putative Mycolthiol-Amidase	0,268	0,503	0,132	0,261	3	0,046

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg1128		putatives Protein, ähnlich zu Ribosomalprotein S2	0,361	0,196	0,268	0,267	3	0,011
cg1136		hypothetisches Protein, konserviert	0,443	0,580	0,492	0,502	3	0,010
cg1143		putativer Transkriptionsregulator, GntR-Familie	0,162	0,388	0,191	0,229	3	0,019
cg1151	<i>seuA</i>	FMNH2-abhängige Monooxygenase zur Sulfonatesterilization	1,062	1,124		1,092	2	0,033
cg1156	<i>ssuD2</i>	FMNH2-abhängige alipatische Sulfonat-Monooxygenase	1,160	1,446	1,118	1,233	3	0,022
cg1163	<i>xseA</i>	Exodeoxyribonuclease VII große Untereinheit	1,086	1,007	1,035	1,042	3	0,005
cg1165		putative Gamma-aminobutyrat-Permease oder ähnliche Permease	0,493	0,590	0,402	0,489	3	0,018
cg1166		putatives Membranprotein		1,312	1,424	1,367	2	0,026
cg1171		putative GTPase	0,534	0,241	0,134	0,259	3	0,048
cg1172		putatives Protein, konserviert	0,682	0,636	0,736	0,684	3	0,016
cg1215	<i>nadC</i>	Quinolinalphosphoribosyl-Transferase	1,668	1,152	1,239	1,336	3	0,029
cg1240		hypothetisches Protein	0,575	0,612	0,379	0,511	3	0,038
cg1242		putatives Membranprotein	0,523	0,378	0,506	0,464	3	0,014
cg1243		putative sekretierte trypsin-ähnliche Serin-Protease, beinhaltet C-terminale PDZ-Domäne	0,377	0,463	0,454	0,430	3	0,004
cg1246		hypothetisches Protein, konserviert	0,730	0,640	0,609	0,658	3	0,020
cg1247		putatives sekretierendes Protein	0,384	0,484	0,324	0,392	3	0,011
cg1248		putative GTPase involviert in der Stressantwort	0,377	0,165	0,083	0,173	3	0,034
cg1252	<i>fdxC</i>	Ferredoxin Nr. 3	0,285	0,258	0,567	0,347	3	0,034
cg1256	<i>dapD</i>	Tetrahydrodipicolinat-Succinylase	0,439	0,487	0,375	0,431	3	0,006
cg1261		Lysinecarboxylaseprotein	1,767	1,415	1,107	1,404	3	0,033
cg1265		hypothetisches Protein, konserviert		1,517	1,759	1,633	2	0,036
cg1266	<i>rrmA</i>	rRNA-Guanine-N1-methyl-Transferase	0,951	0,945	1,075	0,989	3	0,037
cg1271	<i>sigE</i>	rRNA-Polymerase sigma-70 Faktor, ECF-Familie	0,364	0,369	0,619	0,437	3	0,031
cg1272		hypothetisches Protein, konserviert	0,557	0,620	0,564	0,580	3	0,003
cg1277		putatives Membranprotein, konserviert	1,444	1,684	3,387	2,020	3	0,041
cg1279		putatives sekretierendes Protein	2,982	4,342	8,669	4,824	3	0,016
cg1284	<i>lipT</i>	Typ B Carboxylesterase	1,914	1,740	5,678	2,664	3	0,048
cg1285		hypothetisches Protein, konserviert	2,216	1,308	2,758	1,999	3	0,031
cg1291		putatives Membranprotein	2,408	3,330	14,203	4,847	3	0,043
cg1322		putatives Protein, konserviert, YceL-Homolog	0,232	0,399	0,487	0,356	3	0,029
cg1326		hypothetisches Protein	0,547	0,340	0,369	0,409	3	0,019
cg1332		putative sekretorische Hydrolase	0,162	0,289	0,095	0,164	3	0,018
cg1348		Nitrat/Nitritimporter	1,439	2,781	3,062	2,305	3	0,026
cg1352	<i>modA</i>	Molybdenum-cofaktorbiosyntheseprotein A	1,724	1,865	4,503	2,437	3	0,038
cg1368	<i>atpD</i>	F ₁ F ₀ -ATP-Synthase, beta Untereinheit des F ₁ -Teils	1,477	3,604	1,848	2,143	3	0,038
cg1373		putative Glyoxalase/Bleomycinresistenz/Dioxygenasesuperfamilie Protein	0,210	0,365	0,452	0,326	3	0,026
cg1377	<i>ssuC</i>	aliphatisches Sulfonattransmembran-ABC-Transporterprotein	1,358	1,326		1,342	2	0,003
cg1383		putativer ABC-Typ Molybdenumtransportsystem, ATPase Komponente	1,764	1,534	3,221	2,058	3	0,031
cg1389		putatives sekretierendes Protein	1,005	1,054		1,029	2	0,036
cg1392		putativer Transkriptionsregulator, CRO/CI-Familie, HTA_3-Familie	1,485	2,533	4,716	2,608	3	0,040
cg1400		putative DNA-Polymerase III Untereinheit epsilon	0,512	0,706	0,480	0,558	3	0,035
cg1403	<i>gotC</i>	Glutamyl-tRNA-amido-Transferase Untereinheit C	0,236	0,280	0,307	0,273	3	0,002
cg1405		putatives cytoplasmatisches Siderophoreinteragierendes Protein	1,194	1,155	0,982	1,106	3	0,025
cg1432	<i>ilvD</i>	Dihydroxyäure-Dehydratase	0,340	0,570	0,346	0,406	3	0,024
cg1451	<i>serA</i>	Phosphoglycerat-Dehydrogenase	1,746	2,005	2,088	1,941	3	0,002
cg1452		hypothetisches Protein	1,790	1,242	2,866	1,854	3	0,043
cg1458	<i>odx</i>	Oxalacetat-Decarboxylase	0,498	0,468	0,293	0,409	3	0,024
cg1462		Isocitrat-Synthase	0,160	0,303	0,110	0,175	3	0,016
cg1478		hypothetisches Protein		1,166	1,220	1,193	2	0,017
cg1484		putatives sekretiertes Protein	2,472	2,154	9,104	3,646	3	0,044
cg1485		putative metallabhängige Phosphohydrolase, RelA/Spot Homolog	2,992	1,556	1,756	2,015	3	0,025

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg1492	<i>gpsA</i>	NAD(P)H-abhängige Glycerol-3-phosphat-Dehydrogenase	0,737	0,580	0,480	0,590	3	0,048
cg1493	<i>ddl</i>	D-Alanylalanin-Synthetase	0,457	0,643	0,493	0,525	3	0,021
cg1496	<i>ung</i>	Uracil-DNA-Glycosylase	1,220	1,566	1,263	1,341	3	0,014
cg1497		putative Kinase ähnlich zu Dihydroxyacetat-Kinase	0,347	0,362	0,104	0,235	3	0,044
cg1508		putatives Pseudogen, ähnlich zu Psp1 CGP1-Region		0,633	0,661	0,647	2	0,020
cg1510		hypothetisches Protein, konserviert	0,539	0,671	0,703	0,634	3	0,033
cg1512		hypothetisches Protein, CGP1 Region	0,546	0,551	0,504	0,533	3	0,001
cg1530		putative SAM-abhängige Methyl-Transferase	0,453	0,588	0,513	0,515	3	0,010
cg1537	<i>ptsG</i>	Glucose-spezifisches Enzym II BC Komponente von PTS	1,689	2,887	3,420	2,555	3	0,018
cg1538		Dephospho-CoA-Kinase	1,857	1,234	2,015	1,665	3	0,024
cg1540		putatives sekretierendes Protein	0,454		0,388	0,420	2	0,035
cg1551	<i>uspA1</i>	Universalstressprotein, Nucleotid-bindeprotein	0,539	0,435	0,380	0,446	3	0,012
cg1556		hypothetisches Protein, konserviert	0,684	0,395	0,341	0,452	3	0,047
cg1564	<i>rpmI</i>	50S Ribosomalprotein L35	0,263	0,462	0,271	0,321	3	0,016
cg1573	<i>tsnR</i>	23S Ribosomal-RNA-methyl-Transferase	0,524	0,599	0,364	0,485	3	0,031
cg1584	<i>argF</i>	Ornithincarbamoyl-Transferase	2,401	3,076	1,685	2,317	3	0,015
cg1585	<i>argR</i>	Transkriptionsrepressor der Argininbiosynthese, ArgR-Familie	1,701	1,982	2,150	1,935	3	0,003
cg1603		hypothetisches Protein, konserviert	0,292	0,356	0,204	0,277	3	0,010
cg1613	<i>sseA2</i>	Sulfur-Transferase zu Rhodanese zugeordnet	0,438	0,381	0,317	0,376	3	0,006
cg1614		putatives Segregations- und Kondensationsprotein	0,279	0,217	0,137	0,203	3	0,010
cg1631		putativer Transkriptionsregulator, MerR-Familie	1,369	0,997	1,149	1,162	3	0,039
cg1639		putatives Membranprotein beinhaltet CBS-Domäne	1,313	0,990	1,134	1,138	3	0,036
cg1644		putatives Protein, möglicherweise in Katabolismus von aromatischen Komponenten involviert	0,504	0,489	0,367	0,449	3	0,012
cg1654	<i>thiD1</i>	Thiaminphosphat-Pyrophosphorylase	1,269	1,444	2,509	1,663	3	0,043
cg1655	<i>thiM</i>	Hydroxyethylthiazol-Kinase	2,382	3,257	7,203	3,823	3	0,023
cg1659	<i>gpt</i>	Purinphosphoribosyl-Transferase	0,512	0,524	0,342	0,451	3	0,022
cg1662		putatives sekretierendes Protein	0,178	0,458	0,401	0,320	3	0,040
cg1676	<i>lip</i>	putative Lipase		0,697	0,730	0,713	2	0,034
cg1681	<i>pepE</i>	Prolin-Dipeptidase	0,673	0,584	0,488	0,577	3	0,025
cg1682		putative trypsin-ähnliche Serinprotease	0,177	0,299	0,139	0,194	3	0,011
cg1685	<i>tatA</i>	Zwillingen Arginin-Translocase Protein A	0,191	0,372	0,251	0,261	3	0,013
cg1690		Depupylase von pup	1,092	1,399	1,085	1,183	3	0,030
cg1697	<i>aspA</i>	Aspartatammonia-lyase (Aspartase)	0,194	0,227	0,164	0,193	3	0,002
cg1698	<i>hisG</i>	ATP-Phosphoribosyl-Transferase	0,223	0,336	0,235	0,260	3	0,006
cg1699	<i>hisE</i>	Phosphoribosyl-ATP-pyro-Phosphatase	0,385	0,413	0,246	0,339	3	0,015
cg1705	<i>arsB1</i>	Arsenit-Permease	1,527	2,037	1,231	1,565	3	0,027
cg1734	<i>hemH</i>	eisenchelatischer, essenziell	1,041	1,265	1,669	1,300	3	0,046
cg1746		putatives Membranprotein, CGP2 Region	1,557	1,066	1,195	1,256	3	0,038
cg1753		putative ATPase Komponente des ABC Transporters mit dublizierter ATPase-Domäne	0,161	0,421	0,286	0,269	3	0,027
cg1761	<i>sufS</i>	Fe-S cluster Aufbauprotein	1,357	3,165	1,712	1,944	3	0,041
cg1769	<i>ctaA</i>	Cytochromoxidase Aufbauprotein	1,537	1,059	1,360	1,303	3	0,031
cg1787	<i>ppc</i>	Phosphoenolpyruvatcarboxylase	1,493	2,278	2,065	1,915	3	0,012
cg1789	<i>tpi</i>	Triosephosphat-Isomerase	3,621	3,243	2,655	3,147	3	0,002
cg1791	<i>gap</i>	Glyceraldehyd-3-phosphatdehydrogenase	2,264	2,398	7,649	3,463	3	0,036
cg1796	<i>ribX</i>	putatives Membranprotein	0,980	1,284	1,086	1,110	3	0,040
cg1808		hypothetisches Protein	1,363	1,627	1,674	1,549	3	0,006
cg1810	<i>gmk</i>	Guanylat-Kinase	0,674	0,630	0,651	0,651	3	0,002
cg1821		hypothetisches Protein, konserviert	0,343	0,520	0,588	0,471	3	0,034
cg1822		hypothetisches Protein, konserviert	0,510	0,567	0,598	0,557	3	0,006
cg1824	<i>nusB</i>	Transkriptionsantiterminationsprotein	0,957	1,237	1,109	1,095	3	0,039
cg1827	<i>aroB</i>	3-Dehydroquinate-Synthase	1,360	1,061	1,057	1,151	3	0,035
cg1837		putative holliday junction resolvase-ähnliches Protein	0,229	0,482	0,141	0,250	3	0,037
cg1838	<i>aloS</i>	Alanyl-tRNA-Synthetase	0,437	0,571	0,291	0,417	3	0,034
cg1841	<i>aspS</i>	Aspartyl-tRNA-Synthetase	0,336	0,366	0,143	0,260	3	0,029
cg1842		putative sekretierte Metalloprotease	0,275	0,365	0,152	0,248	3	0,021

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg1848		putative Coenzyme F420-abhängiges N5,N10-Methylen-tetrahydromethanopterin-Reductase oder Flavin-abhängig	0,640	0,585	0,376	0,520	3	0,047
cg1856		Zn-abhängige Hydrolase	0,242	0,493	0,197	0,287	3	0,030
cg1857	<i>ppiB</i>	Peptidyl-prolyl-cis-trans-Isomerase	0,665	0,458	0,344	0,471	3	0,044
cg1859		putatives sekretierendes Protein	0,393	0,358	0,252	0,329	3	0,010
cg1876		Glycosyl-Transferase	1,233	1,561	2,532	1,695	3	0,042
cg1877		putative Lipid A biosynthetische Lauroylacyl-Transferase		2,480	2,286	2,381	2	0,012
cg1879		putative Hydrolase, HIT-Familie	1,106	2,238	1,859	1,663	3	0,044
cg1880	<i>thrS</i>	Threonyl-tRNA-Synthetase	1,166	2,256	1,862	1,698	3	0,036
cg1884		hypothetisches Protein	1,101	1,355	1,482	1,303	3	0,020
cg1894		hypothetisches Protein, CGP3 Region	0,339	0,364	0,424	0,374	3	0,003
cg1902		putatives sekretierendes Protein, CGP3 Region	2,500	1,586	3,065	2,299	3	0,018
cg1906		hypothetisches Protein, CGP3 Region	0,389	0,455	0,446	0,429	3	0,002
cg1907		putative Phosphopantothenoicystein-Synthetase/Decarboxylase	0,590	0,581	0,704	0,623	3	0,018
cg1908		hypothetisches Protein, CGP3 Region	0,681	0,653	0,784	0,704	3	0,036
cg1917		hypothetisches Protein, CGP3 Region	1,371	2,113	4,026	2,268	3	0,045
cg1962		putatives Membranprotein, CGP2 Region	0,366	0,411	0,681	0,468	3	0,043
cg1970		hypothetisches Protein, CGP3 Region		1,104	1,114	1,109	2	0,000
cg1974		putatives Protein	2,291	1,922		2,098	2	0,031
cg1975		hypothetisches Protein, CGP3 Region	3,028	1,806	6,863	3,348	3	0,036
cg1986		hypothetisches Protein, CGP3 Region	1,509	1,335		1,419	2	0,038
cg1987		hypothetisches Protein, CGP3 Region	1,346	0,977	1,233	1,175	3	0,040
cg2025		hypothetisches Protein, CGP3 Region	0,367	0,285	0,211	0,281	3	0,010
cg2030		hypothetisches Protein, CGP3 Region		0,700	0,661	0,680	2	0,037
cg2043		hypothetisches Protein, CGP3 Region	0,449	0,242	0,232	0,293	3	0,019
cg2052		putatives sekretierendes Protein, CGP3 Region	1,179	1,823	1,965	1,617	3	0,029
cg2060		hypothetisches Protein, CGP3 Region	1,374	1,160	1,722	1,400	3	0,025
cg2073		putative Glycerate-Kinase, konserviert	2,272	2,007		2,135	2	0,021
cg2077		putative Arabinofuranosyl-Transferase	0,331	0,503	0,283	0,361	3	0,019
cg2084		putative RNA-Methyl-Transferase	1,181	1,128	1,081	1,129	3	0,003
cg2091	<i>ppgK</i>	Poliphosphatgluco-Kinase	0,277	0,352	0,208	0,273	3	0,009
cg2103	<i>dxr</i>	Diphtheriatoxinrepressor	0,765	0,619	0,615	0,663	3	0,035
cg2105		hypothetisches Protein	1,531	1,365		1,446	2	0,034
cg2106		hypothetisches Protein, konserviert	0,630	0,615	0,464	0,565	3	0,026
cg2109	<i>oxyR</i>	Hydrogenperoxidsensorregulator, Lys-Familie	1,347	1,670	2,344	1,740	3	0,024
cg2110		putatives Membranprotein	2,502	1,637	4,087	2,558	3	0,027
cg2115	<i>sugR</i>	Transkriptionsregulator, DeoR-Typ	0,515	0,602	0,351	0,477	3	0,034
cg2133		putative Acetyl-Transferase, GNAT-Familie	1,095	1,048	0,926	1,020	3	0,035
cg2151		putatives Protein, ähnlich zum Phagenschockprotein A	0,486	0,344	0,425	0,414	3	0,009
cg2163	<i>dapB</i>	Dihydrodipicolinat-Reductase	0,738	0,597	0,580	0,635	3	0,029
cg2170	<i>truB</i>	tRNA-Pseudouridin-Synthase B	0,463	0,635	0,307	0,449	3	0,046
cg2174		putatives Exopolysphatase-ähnliches Protein	1,032	1,045	1,149	1,074	3	0,010
cg2193		putative Lyso-phospho-Lipase	0,368	0,526	0,333	0,401	3	0,016
cg2198	<i>map2</i>	Methioninamino-Peptidase	0,502	0,560	0,386	0,477	3	0,017
cg2211		putatives Membranprotein	0,412	0,490	0,720	0,526	3	0,049
cg2213		putatives ABC-Typ Multidrugtransportsystem, ATPase Komponente	0,384	0,332	0,342	0,352	3	0,001
cg2235	<i>rplS</i>	50S Ribosomalprotein L19	2,035	1,484	1,114	1,499	3	0,042
cg2240	<i>thiF</i>	Molybdopterin Biosyntheseprotein MoeB	1,810	1,316	1,382	1,488	3	0,015
cg2250		putatives sekretierendes Lipoprotein	1,487	1,588		1,537	2	0,016
cg2253	<i>rpsP</i>	30S Ribosomalprotein S16	0,588	0,583	0,464	0,542	3	0,014
cg2257	<i>srp</i>	Signalerkennungspartikel GTPase	0,374	0,437	0,191	0,315	3	0,030
cg2262	<i>ftsY</i>	Signalerkennungspartikel GTPase	2,369	1,443	1,183	1,593	3	0,047
cg2269		putative Permease	0,911	0,917		0,914	2	0,000
cg2286		putatives Membranprotein	1,069	1,078		1,074	2	0,000
cg2307		putatives Membranprotein	0,309	0,384	0,264	0,316	3	0,006
cg2308		putatives sekretierendes Protein	0,130	0,111	0,168	0,134	3	0,002

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg2310	<i>gigX</i>	Glycogenentzweigungsenzym	0,212	0,324	0,309	0,277	3	0,007
cg2312	<i>gip</i>	putative Hydroxy-pyruvat-Isomerase	1,330	1,552		1,437	2	0,046
cg2336		putatives sekretierendes Protein	0,424	0,086	0,123	0,165	3	0,038
cg2343		putative Decarboxylase	0,740	0,818	0,726	0,761	3	0,043
cg2349		putative ATPase Komponente von ABC-Transportern mit dublicierter ATPase-Domäne	1,018	1,004		1,011	2	0,001
cg2358		hypothetisches Protein, konserviert	1,851	1,331	1,259	1,458	3	0,024
cg2361	<i>divIV A</i>	Zellteilungsinitiationsprotein	0,628	0,483	0,363	0,479	3	0,033
cg2365		hypothetisches Protein, konserviert	0,608	0,640	0,485	0,574	3	0,021
cg2368	<i>murC</i>	UDP-N-Acetylmuramate-L-Alanin-Ligase	1,070	1,352	1,733	1,358	3	0,040
cg2369	<i>murG</i>	N-Acetylglucosaminyl-Transferase	1,753	2,580	1,329	1,818	3	0,030
cg2370	<i>ftsW</i>	bakterielles Zellteilungsmembranprotein	1,288	2,445	3,794	2,286	3	0,044
cg2373	<i>murF</i>	D-Alanine-D-Alanine-hinzufügendes Enzyme	1,217	1,933	1,242	1,429	3	0,038
cg2377	<i>mraW</i>	S-Adenosyl-methyl-Transferase		0,626	0,659	0,642	2	0,025
cg2386		hypothetisches Protein, konserviert	0,438	0,414	0,653	0,491	3	0,030
cg2409	<i>ctaC</i>	Cytochrom-aa ₃ -Oxidase, Untereinheit 2	0,457	0,463	0,344	0,418	3	0,009
cg2414	<i>cobT</i>	Nicotinate-nucleotide-dimethylbenzimidazolphosphoribosyl-Transferase	0,438	0,611	0,365	0,460	3	0,027
cg2423	<i>lipA</i>	Lipoyl-Synthase/Synthetase	0,542	0,388	0,506	0,474	3	0,014
cg2425	<i>sucE</i>	Succinatexporter	2,662	7,999	11,261	6,213	3	0,022
cg2429	<i>glnA</i>	Glutamine-Synthetase I	0,434	0,677	0,379	0,481	3	0,041
cg2431		putativer Transkriptionsregulator, konserviert	1,193	1,474	2,533	1,645	3	0,050
cg2435		putativer Proteinsynthesinhibitor	0,417	0,336	0,527	0,420	3	0,016
cg2438		hypothetisches Protein	0,131	0,159	0,131	0,140	3	0,001
cg2440		putative Permease	0,352	0,345	0,104	0,233	3	0,042
cg2459	<i>ptpA</i>	Protein-tyrosine-Phosphatase	2,754	2,756	4,339	3,206	3	0,006
cg2472		putative Hydrolase oder Acyl-Transferase	2,130	2,397	4,866	2,918	3	0,021
cg2492	<i>glmS</i>	D-Fructose-6-phosphatamido-Transferase	0,317	0,235	0,189	0,242	3	0,007
cg2495		hypothetisches Protein, konserviert	0,950	1,066	1,106	1,038	3	0,025
cg2500		putativer Transkriptionsregulator, ArsR-Familie	1,657	2,592	6,680	3,061	3	0,045
cg2509	<i>recO</i>	DNA-Reparaturprotein	0,959	1,053	1,164	1,055	3	0,032
cg2511		putatives Membranprotein beinhaltet CBS-Domäne	1,257	1,879	1,191	1,412	3	0,037
cg2520		hypothetisches Protein	0,988	1,367	1,119	1,148	3	0,045
cg2526		putatives sekretiertes oder Membranprotein	0,715	0,457	0,407	0,510	3	0,048
cg2529	<i>treS</i>	Trehalose-Synthase (Maltose-alpha-D-glucosyl-Transferase)	0,392	0,535	0,224	0,361	3	0,039
cg2556		putatives eisenreguliertes Membranprotein	0,542	0,694	0,574	0,600	3	0,021
cg2565		hypothetisches Protein	0,618	0,600		0,609	2	0,007
cg2575		putatives Ankyrinwiederholungsprotein	0,387	0,372	0,689	0,463	3	0,046
cg2579		putatives Protein, DegV-Familie, konserviert	0,245		0,282	0,263	2	0,019
cg2586	<i>proA</i>	Gamma-glutamylphosphat-Reductase	0,372	0,663	0,327	0,432	3	0,044
cg2591	<i>dkgA</i>	2,5-Diketo-D-gluconat-Reductase	0,687	0,731	0,573	0,660	3	0,036
cg2593		putatives sekretierendes oder Membranprotein	0,261	0,419	0,365	0,342	3	0,011
cg2600	<i>tnp1d</i>	Transposase	1,146	1,056		1,100	2	0,049
cg2603	<i>ndk</i>	Nucleosiddiphosphat-Kinase	0,602	0,579	0,677	0,618	3	0,010
cg2606		hypothetisches Protein, konserviert	1,553	1,192	1,573	1,428	3	0,015
cg2607		putatives Membranprotein	1,606	1,380	2,373	1,739	3	0,024
cg2609	<i>volS</i>	Valyl-tRNA-Synthetase	0,716	0,510	0,506	0,570	3	0,035
cg2612		putatives Rossmann-fold nucleotidbindendes Protein	2,401	2,218	7,338	3,394	3	0,035
cg2613	<i>mdh</i>	Malat-Dehydrogenase	1,759	4,344	5,605	3,499	3	0,028
cg2614		putativer Transkriptionsregulator, TetR-Familie	0,449	0,465	0,422	0,445	3	0,001
cg2625	<i>pcaF</i>	β-Ketoacyl-CoA-Thiolase		1,634	1,416	1,521	2	0,039
cg2627	<i>pcaO</i>	Transkriptionsregulator des 4-Hydroxybenzoats, Protocatechuate, p-Cresol Stoffwechselweg	2,415	1,301	1,651	1,731	3	0,030
cg2628	<i>pcaC</i>	γ-Carboxymuconolacton-Decarboxylase	1,130	1,187	1,634	1,299	3	0,034
cg2629	<i>pcaB</i>	β-Carboxy-cis,cis-muconatcyclase-Isomerase	1,025	0,928	1,033	0,994	3	0,023
cg2658	<i>rpl</i>	Ribose-5-phosphat-Isomerase B	0,395	0,285	0,250	0,304	3	0,008

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg2661		putative Dithiol-disulfid-Isomerase involviert in Polyketidbiosynthese	0,377	0,655	0,379	0,454	3	0,037
cg2662	<i>pepN</i>	Aminopeptidase N	1,037	1,146	1,423	1,192	3	0,035
cg2664		putative Typ IV Restriktions-Endonuclease	0,976	0,995		0,985	2	0,008
cg2668	<i>crtI</i>	Phytoend-Saturase (C-Terminalfragment)	0,913	0,916		0,915	2	0,000
cg2686		putativer Transkriptionsregulator, TetR-Familie	1,433	1,130	1,431	1,323	3	0,015
cg2692		putative Thioesterase	0,390	0,346	0,113	0,248	3	0,044
cg2711		putatives sekretierendes Protein	1,050	1,109		1,079	2	0,034
cg2728	<i>glxK</i>	Glutaminase	0,378	0,547	0,302	0,397	3	0,024
cg2733		putative HNH-Nuclease	1,496	1,511		1,504	2	0,000
cg2765		putatives sekretierendes Protein	0,618	0,442	0,500	0,515	3	0,017
cg2772	<i>clpS</i>	ATP-abhängige Clp-Proteaseverbindungsprotein	0,298	0,574	0,445	0,424	3	0,033
cg2783	<i>gntR1</i>	auf Gluconate ansprechender Repressor der Gene, die in Gluconatkatabolismus und dem PPP involviert sind	0,572	0,490	0,341	0,457	3	0,027
cg2786	<i>nrdE</i>	Ribonucleotide-diphosphat-Reductase alpha Untereinheit	0,113	0,299	0,117	0,158	3	0,017
cg2789	<i>nrdH</i>	Mycoredoxin 2	0,203	0,234	0,141	0,188	3	0,005
cg2792	<i>nadE</i>	NAD ⁺ -Synthetase	1,069	1,040	0,948	1,018	3	0,019
cg2794		hypothetisches Protein, konserviert	2,036	3,850	6,948	3,791	3	0,026
cg2797		hypothetisches Protein, konserviert	1,326	1,245		1,285	2	0,022
cg2824		SAM-abhängige Methyl-Transferase	1,202	1,185		1,193	2	0,000
cg2829	<i>murA 2</i>	UDP-N-Acetylglucosamine 1-carboxyvinyl-Transferase	0,625	0,638	0,738	0,665	3	0,020
cg2834	<i>cysE</i>	Serine-O-acetyl-Transferase	0,511	0,340	0,199	0,326	3	0,036
cg2846	<i>pstS</i>	ABC-Typ Phosphatransportsystem, sekretierte Komponente	1,580	2,123	3,211	2,209	3	0,022
cg2850		hypothetisches Protein, konserviert	0,444	0,616	0,412	0,483	3	0,022
cg2856	<i>purM</i>	Phosphoribosylaminimidazol-Synthetase	0,475	0,548	0,442	0,486	3	0,006
cg2857	<i>purF</i>	Amidophosphoribosyl-Transferase	0,226	0,409	0,209	0,269	3	0,016
cg2862	<i>purL</i>	Phosphoribosylformylglycinamidin-Synthase Untereinheit II	1,588	1,741	1,946	1,752	3	0,003
cg2868	<i>nuc</i>	putative extrazelluläre Nuclease	1,490	1,251	1,042	1,247	3	0,034
cg2875		hypothetisches Protein	2,163	1,095	2,075	1,700	3	0,045
cg2883		putative SAM-abhängige Methyl-Transferase	1,054	1,035		1,045	2	0,004
cg2887	<i>phoS</i>	Zweikomponenten-Sensor-Kinase, Phosphatthomöostase	0,531	0,555	0,415	0,496	3	0,013
cg2888	<i>phoR</i>	Zweikomponenten-Antwort-Regulator, Phosphatthomöostase	0,178	0,431	0,189	0,244	3	0,024
cg2895		putative Permease, Hauptfacilitator Superfamilie	1,559	1,376	1,023	1,299	3	0,039
cg2906		hypothetisches Protein, konserviert	0,309	0,620	0,309	0,390	3	0,039
cg2910		Inositol-phosphat-Synthaseaktivator, LacI-Familie	0,650	0,545	0,608	0,599	3	0,010
cg2917		hypothetisches Protein, konserviert	1,775	1,259	0,030	1,655	3	0,022
cg2927	<i>scrB</i>	putative Sucrose-6-phosphat-Hydrolase	0,340	0,308	0,160	0,256	3	0,018
cg2936		putativer Transkriptionsregulator, GntR-Familie	0,767	0,758	0,638	0,718	3	0,049
cg2945	<i>ispD</i>	2-C-Methyl-D-erythritol-4-phosphatcytidyllyl-Transferase	0,373	0,424	0,446	0,413	3	0,003
cg2949		putatives sekretiertes Protein	0,242	0,399	0,282	0,300	3	0,010
cg2954	<i>cynT</i>	Carbonican-Hydrase	0,503	0,313	0,453	0,414	3	0,019
cg2959		putatives sekretiertes Protein	1,639	1,276	2,416	1,716	3	0,032
cg2963	<i>clpC</i>	mögliche ATP-abhängige Protease (Hitzeschockprotein)	1,186	1,930	1,537	1,521	3	0,027
cg2970		hypothetisches Protein, konserviert	0,320	0,381	0,399	0,365	3	0,003
cg2974	<i>lysS</i>	Lysyl-tRNA-Synthetase	0,244	0,332	0,184	0,246	3	0,009
cg2975	<i>panC 2</i>	Pantoat-beta-alanine-Ligase	0,392	0,647	0,449	0,485	3	0,032
cg2979	<i>folK</i>	7, 8-Dihydro-6-hydroxymethylpterin-pyrophospho-Kinase		1,703	2,140	1,909	2	0,045
cg2982	<i>folP1</i>	Dihydropteroat-Synthase		1,887	1,527	1,697	2	0,048
cg2983	<i>folE</i>	GTP-Cyclohydrolase I	1,119	1,615	1,196	1,293	3	0,033
cg2985	<i>hpt</i>	Hypoxanthine-guaninphosphoribosyl-Transferase	0,465	0,720	0,438	0,527	3	0,045
cg2988	<i>ppa</i>	anorganische Pyrophosphatase	0,206	0,476	0,376	0,333	3	0,032
cg3008	<i>porA</i>	Zellwandtunnelprotein	1,923	1,124	1,683	1,538	3	0,034
cg3022		Acetyl-CoA-acetyl-Transferase	0,394	0,469	0,171	0,316	3	0,043
cg3026	<i>mrpD</i>	Untereinheit 6 der Na ⁺ K ⁺ /H ⁺ Antiporter Mrp2	2,359	1,920	2,349	2,199	3	0,002
cg3031		hypothetisches Protein, konserviert	0,404	0,424	0,158	0,300	3	0,041
cg3032		putatives sekretiertes Protein	0,434	0,390	0,146	0,291	3	0,045

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg3046	<i>pknG</i>	Serine/Threoninprotein-Kinase	1,286	2,022	2,088	1,758	3	0,022
cg3048	<i>pta</i>	Phosphatase	0,250	0,503	0,465	0,388	3	0,035
cg3050		putative Acyltransferase	0,298	0,280	0,261	0,279	3	0,001
cg3053		putative Permease, Hauptfacilitator Superfamilie	0,494	0,722	0,443	0,541	3	0,045
cg3066		putatives Membranprotein	0,687	0,655	0,507	0,611	3	0,035
cg3068	<i>fda</i>	Fructose-bisphosphat-Aldolase	3,282	1,276	2,849	2,285	3	0,040
cg3074		putativer Transkriptionsregulator, konserviert	1,020	0,964	0,899	0,960	3	0,043
cg3078		hypothetisches Protein	3,558	1,715	3,755	2,840	3	0,021
cg3085		Alkanal-Monooxygenase alpha-Kette	0,979	0,982	0,905	0,954	3	0,025
cg3094		hypothetisches Protein	1,351	1,200		1,273	2	0,046
cg3100	<i>Dank</i>	molekulares Chaperon (Hitzeschockprotein)	1,562	6,472	3,759	3,362	3	0,040
cg3101		putative Permease	1,495		1,469	1,482	2	0,001
cg3122	<i>phnB 1</i>	putatives Protein, homolog zu PhnB aus E. coli	1,221	1,062	1,211	1,162	3	0,010
cg3149	<i>alaT</i>	Aminotransferase, Alanin, Glutamat, 2-Aminobutyrat und Aspartat	0,243	0,373	0,372	0,323	3	0,010
cg3160		putatives sekretierendes Protein	0,570	0,578	0,528	0,558	3	0,002
cg3162		hypothetisches Protein	0,934	1,263	1,185	1,118	3	0,050
cg3186	<i>cmt2</i>	Trehalosecorynomycyl-Transferase	0,418	0,403	0,210	0,328	3	0,025
cg3193		putative membranassoziierte Phospholipid-Phosphatase	2,330	1,825	4,620	2,698	3	0,027
cg3194		putative membranassoziierte PA-Phosphatase	1,103	1,102	1,122	1,109	3	0,000
cg3202		Transkriptionsregulator, GntR-Familie	1,176	1,784	2,710	1,785	3	0,046
cg3204		hypothetisches Protein, konserviert	0,920	1,013	0,961	0,964	3	0,023
cg3207	<i>pheA</i>	Prephenat-Dehydratase	0,145	0,494	0,229	0,254	3	0,038
cg3212		putatives Carboxymuconolacton-Decarboxylase Untereinheit	0,575	0,407	0,586	0,516	3	0,025
cg3215	<i>glpQ1</i>	putative Glycerophosphoryldiesterphospho-Diesterase	1,152	1,317	2,038	1,457	3	0,045
cg3219	<i>ldhA</i>	NAD-abhängige L-Lactat-Dehydrogenase	####	45,446	47,541	30,375	3	0,007
cg3223		putative NADPH-abhängige FMN-Reduktase	0,400	0,596	0,649	0,537	3	0,044
cg3228		hypothetisches Protein	1,360	1,398		1,379	2	0,004
cg3230		putativer Transkriptionsregulator, HTH_3-Familie	1,231	1,484	1,357	1,353	3	0,007
cg3235		hypothetisches Protein	1,223	1,113		1,167	2	0,046
cg3247	<i>hrrA</i>	erster Zweikomponenten-Antwort-Regulator der Heme Homöostase	0,487	0,658	0,570	0,567	3	0,021
cg3254		putatives Membranprotein		0,437	0,444	0,441	2	0,000
cg3255	<i>uspA3</i>	universales Stressprotein	2,528	8,791	12,853	6,586	3	0,027
cg3263		hypothetisches Protein, konserviert	0,574	0,450	0,253	0,403	3	0,045
cg3266	<i>tnp5c</i>	Transposase	1,461	1,233	1,171	1,282	3	0,013
cg3287		sekretierte Multikupfer-Oxidase	1,463	1,344	1,033	1,266	3	0,032
cg3293		hypothetisches Protein	1,085	1,143	1,366	1,192	3	0,020
cg3295		putativer Cd2+/Kationtransportierende ATPase	1,208	1,478	2,264	1,593	3	0,039
cg3297	<i>tnp19 b</i>	Transposasefragment	1,679	1,167	1,580	1,458	3	0,021
cg3299	<i>trxB1</i>	Thioredoxin	0,426	0,348	0,657	0,460	3	0,040
cg3303		putativer Transkriptionsregulator, PadR-Familie	1,081	1,653	2,010	1,532	3	0,043
cg3309		putatives sekretierendes Protein	1,621	2,095	2,618	2,072	3	0,012
cg3315		putativer Transkriptionsregulator, MarR-Familie	0,221	0,240	0,159	0,203	3	0,004
cg3324		putatives sekretierendes Protein	0,456	0,527	0,220	0,375	3	0,046
cg3327	<i>dps</i>	hungerinduziertes DNA-Schutzprotein	1,769	2,616	7,844	3,311	3	0,047
cg3330		putatives sekretierendes Protein	0,929	0,982	1,029	0,979	3	0,020
cg3332		putative Quinonoxido-Reduktase	1,248	1,212	1,489	1,311	3	0,011
cg3343		putatives sekretierendes Membranprotein	1,694	1,655	1,623	1,657	3	0,000
cg3350	<i>nagK</i>	Fumarylpyruvat-Hydrolase	0,264	0,546	0,524	0,423	3	0,048
cg3356		putativer Na+/H+-Dicarboxylatsymporter	0,417	0,468	0,345	0,407	3	0,007
cg3364	<i>trpA</i>	Tryptophan-Synthase Untereinheit alpha	1,781	1,909		1,844	2	0,013
cg3394		putatives sekretierendes Protein	1,028	1,084		1,055	2	0,036
cg3409	<i>thiD2</i>	Phosphomethylpyrimidin-Kinase	0,451	0,443	0,541	0,476	3	0,006
cg3431	<i>rnpA</i>	Ribonuclease p	0,302	0,371	0,084	0,211	3	0,048
cg3432	<i>rpmH</i>	50S ribosomal protein L34	0,219	0,187	0,111	0,166	3	0,008

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg3433		hypothetisches Protein	1,251	1,201		1,226	2	0,014
cg4003		hypothetisches Protein	0,986	1,387	1,333	1,222	3	0,040
cg4007		hypothetisches Protein, CGP3 Region	1,357	1,435	1,697	1,489	3	0,007

Tabelle 29: Auflistung aller signifikant veränderter Gene aus den Transkriptomexperimenten. Das mRNA-Verhältnis von 30 Minuten anaerob vs. aerob wurde in drei biologisch unabhängigen Replikaten festgestellt. Der Durchschnitt der mRNA-Verhältnisse wurde mit n Replikaten errechnet.

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg0009		putatives Membranprotein	0,837	0,960	1,061	0,948	3	0,046
cg0010		hypothetisches Protein, konserviert	0,515	0,465	0,611	0,527	3	0,021
cg0014		putatives Helix-turn-helix-Protein, CopG-Familie	2,051	2,134	1,771	1,979	3	0,002
cg0015	<i>gyrA</i>	DNA-Gyrase Untereinheit A	1,648	4,024	2,353	2,499	3	0,023
cg0031		putative Reduktase, ähnlich zu Diketogulonatreduktase	1,026	1,048		1,037	2	0,001
cg0046		putatives ABC-Transportprotein, ATP-bindende Komponente	1,721	1,791	2,250	1,907	3	0,004
cg0060	<i>pbpA</i>	D-Alanyl-D-alanincarboxy-Peptidase	0,334	0,626	0,341	0,415	3	0,048
cg0081		putative 4-Oxalocrotonat-Tautomerase	1,627	3,250	4,463	2,868	3	0,024
cg0090	<i>citB</i>	Zweikomponenten-Antwort-Regulator, Citrat Homöostase	1,474	1,170	2,185	1,556	3	0,030
cg0107		putatives sekretiertes Protein	0,377	0,189	0,381	0,301	3	0,028
cg0127		putatives thiaminpyrophosphatabhängiges Enzym	0,705	0,698		0,701	2	0,000
cg0134		Metal-abhängige Amidase/Aminoacylase/Carboxy-Peptidase, AbgB-Homolog	0,462	0,483	0,621	0,517	3	0,025
cg0136		putatives Membranprotein	0,965	0,911	0,901	0,925	3	0,004
cg0138		putatives ATP/GTP-bindendes Protein	0,883	1,016	0,985	0,959	3	0,016
cg0141		putative Glyoxalase/bleomycinresistentes Protein/Dioxigenase	1,222	1,062	1,615	1,279	3	0,027
cg0161		putatives Membranprotein	0,183	0,295	0,184	0,215	3	0,008
cg0178	<i>hrpB</i>	mögliche ATP-abhängige RNA-Helikase	1,309	1,602	3,132	1,873	3	0,039
cg0187		hypothetisches Protein, konserviert	0,630	0,479	0,626	0,504	3	0,034
cg0195		putatives Membranprotein	1,805	1,598	4,615	2,370	3	0,039
cg0197	<i>iolC</i>	Myo-Inositolkatabolismus, Carbohydrat-Kinase	0,171	0,193	0,379	0,232	3	0,020
cg0198		putatives Protein, konserviert, möglicherweise in den Myo-inositolmetabolismus involviert	0,411	0,507	0,364	0,423	3	0,013
cg0215	<i>cspA</i>	Kälteschockprotein	0,654	0,528	0,437	0,532	3	0,043
cg0221		putativer Transkriptionsregulator, LacI-Familie	1,053	1,236	1,435	1,231	3	0,017
cg0223	<i>iolT</i>	Myo-Inositoltransporter 1	0,283	0,170	0,256	0,231	3	0,008
cg0226	<i>tnp2f</i>	Transposase	1,410	1,190	2,490	1,610	3	0,040
cg0237		putative kurzkettige Dehydrogenase oder Oxidoreduktase		1,824	2,239	2,021	2	0,033
cg0238		putative L-Gulonolacton-Oxidase	2,356	3,277	2,918	2,824	3	0,003
cg0241		hypothetisches Protein, konserviert	1,159	1,681	2,664	1,732	3	0,039
cg0242		hypothetisches Protein	1,993	1,841	5,962	2,797	3	0,038
cg0249		putatives Polysaccharid/Polylipidphosphatexportsystem, Permeasekomponente	0,230	0,429	0,306	0,311	3	0,019
cg0253		putative Flavodoxin-Reduktase	1,349	1,204	2,399	1,573	3	0,039
cg0255		hypothetisches Protein	1,290	1,093	1,001	1,121	3	0,018
cg0257	<i>moeB</i>	Molybdopterin-Cofaktor-Synthase, Untereinheit 3	1,513	1,961	4,026	2,286	3	0,033
cg0259	<i>moeB</i>	Molybdopterin-Cofaktor-Biosyntheseprotein, Mog-Familie	2,225	2,354	4,903	2,951	3	0,017
cg0261	<i>moeA1</i>	Molybdopterin-Co-Faktor-Syntheseprotein	1,298	1,203	2,566	1,588	3	0,047
cg0263	<i>modA</i>	ABC-Typ putatives Molybdät-Transporter, molybdät-bindendes sekretiertes Protein		2,534	2,994	2,754	2	0,020
cg0267	<i>aroT</i>	Aminotransferase, benutzt aromatische Aminosäuren	0,579	0,609	0,565	0,584	3	0,002
cg0286		putatives Membranprotein, konserviert	0,199	0,318	0,050	0,147	3	0,048
cg0289	<i>gltX</i>	Glutamyl-tRNA-Synthetase	1,374	1,226	1,451	1,347	3	0,003
cg0295		hypothetisches Protein, konserviert	1,139	1,491	1,130	1,242	3	0,017
cg0298	<i>recR</i>	Rekombinationsprotein	0,443	0,476	0,302	0,399	3	0,021
cg0299	<i>cobQ</i>	Cobryrsäure-Synthase	0,418	0,411	0,530	0,450	3	0,011
cg0303	<i>leuA</i>	2-Isopropylmalat-Synthase	0,156	0,151	0,110	0,138	3	0,002
cg0309	<i>sigC</i>	RNA-Polymerase sigma Faktor, ECF-Familie	1,552	1,153	1,288	1,321	3	0,012
cg0330	<i>cgtR1</i>	Zwei-Komponenten-Antwortregulator	1,148	1,225	1,239	1,203	3	0,001
cg0343		putativer Transkriptionsregulator, MarR-Familie	1,598	1,047	2,125	1,526	3	0,040
cg0354		putatives Thio-dioxygen-ähnliches Protein, sekretierte Thio-disulfid-Isomerase	1,113	1,097	1,580	1,245	3	0,028
cg0355		putative NTP Pyrophospho-Hydrolase	1,076	1,097	1,691	1,259	3	0,039
cg0358		putative Hydrolase oder Acyltransferase	1,064	0,954	1,177	1,061	3	0,016

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg0359		putatives Membranprotein	0,906	1,476	1,483	1,256	3	0,047
cg0360		putative Phosphatase, konserviert	1,270	1,223	1,631	1,363	3	0,012
cg0388		putatives Zn-abhängige Hydrolase	1,123	0,929	1,454	1,149	3	0,045
cg0391	<i>rmlB2</i>	putative dTDP-Glucose 4,6-dehydratase	0,329	0,319	0,305	0,318	3	0,000
cg0393		putatives Membranprotein, konserviert	0,413	0,489	0,561	0,484	3	0,017
cg0400	<i>adhC</i>	Alcohol-Dehydrogenase, Klasse C	1,336	1,457	1,207	1,330	3	0,004
cg0401	<i>rmlA1</i>	TDP-Glucosepyro-Phosphorylase	0,269	0,531	0,279	0,342	3	0,033
cg0403	<i>rmlB1</i>	dTDP-Glucose 4,6-Dehydratase	0,305	0,436	0,288	0,337	3	0,012
cg0416		putativ sekretiertes Protein, beinhaltet eine eukaryotische Domäne	0,264	0,486	0,145	0,265	3	0,046
cg0426	<i>tnp17a</i>	Transposasefragment	1,480	0,959	1,650	1,328	3	0,040
cg0441	<i>lpd</i>	Dihydrolipoamid-Dehydrogenase	1,402	0,999	1,007	1,121	3	0,038
cg0444	<i>ramB</i>	Transkriptionsregulator, involviert im Acetatmetabolismus, MerR-Familie	0,045	0,111	0,058	0,066	3	0,006
cg0445	<i>sdhC</i>	Succinat:Menaquinon-Oxidoreduktase, Cytochrom-b Untereinheit	0,045	0,120	0,156	0,095	3	0,015
cg0446	<i>sdhA</i>	Succinat:Menaquinon-Oxidoreduktase, Flavoprotein Untereinheit	0,079	0,243	0,132	0,136	3	0,017
cg0448		putatives Membranprotein, konserviert	0,228	0,274	0,204	0,234	3	0,002
cg0452		hypothetisches Protein	1,119	1,247	2,051	1,474	3	0,041
cg0453		putatives Membranprotein	1,361	1,433	1,643	1,474	3	0,003
cg0455		putative Permease, Hauptfacilitator Superfamilie	0,254	0,543	0,304	0,348	3	0,037
cg0465		putatives Membranprotein, konserviert	1,537	1,420		1,478	2	0,017
cg0472		hypothetisches Protein, konserviert	0,366	0,412	0,324	0,366	3	0,004
cg0480	<i>fadD5</i>	Acyl-CoA-Synthase	1,772	2,563	3,933	2,614	3	0,017
cg0482	<i>gpmA</i>	Phosphoglycerol-Mutase	1,903	2,427	3,820	2,604	3	0,013
cg0483	<i>cgtS4</i>	Zweikomponenten-Sensor-Kinase	1,511	2,606	2,625	2,178	3	0,015
cg0484	<i>cgtR4</i>	Zweikomponenten-Antwort-Regulator	1,663	3,060	2,288	2,267	3	0,013
cg0487		putatives sekretiertes Protein, konserviert	0,421	0,545	0,504	0,487	3	0,013
cg0497	<i>hemA</i>	Glutamyl-tRNA-Reduktase	0,412	0,554	0,614	0,519	3	0,041
cg0504		NAD-abhängiges Quinatl-Dehydrogenase	0,568	0,505	0,374	0,475	3	0,030
cg0506		putativer ABC-Typ Supermidin/Putrescin/Eisen-Transporter, ATPase Untereinheit	0,207	0,403	0,216	0,262	3	0,019
cg0507		putativer ABC-Typ Supermidin/Putrescin/Eisen-Transporter, Permease Untereinheit	0,152	0,348	0,091	0,169	3	0,030
cg0508		putativer ABC-Typ Supermidin/Putrescin/Eisen-Transporter, substratbindendes Lipoprotein	0,187	0,420	0,135	0,220	3	0,033
cg0515		putative kationentransportierende P-Typ ATPase	0,508	0,601	0,630	0,577	3	0,024
cg0518	<i>hemL</i>	Glutamat-1-semialdehyd-2,1-aminomutase	0,447	0,436	0,463	0,449	3	0,000
cg0528		putativ sekretiertes Protein	3,533	3,947	12,456	5,580	3	0,019
cg0530		hypothetisches Protein	2,085	3,531	9,624	4,138	3	0,032
cg0543		hypothetisches Protein	0,339	0,399	0,308	0,347	3	0,004
cg0549		putative Pterin-4-alpha-carbinolamin-Dehydratase	1,580	1,129	2,758	1,701	3	0,046
cg0559	<i>ispB</i>	putatives Octaprenyl-diphosphat-Synthaseprotein	0,161	0,468	0,351	0,298	3	0,049
cg0573	<i>rplL</i>	50S Ribosomalprotein L7/L12	0,314	0,468	0,370	0,379	3	0,013
cg0575		putatives sekretiertes Protein	1,437	2,110	4,722	2,428	3	0,041
cg0579		putativer Transkriptionsregulator, HTH 3-Familie	2,061	1,608	1,763	1,801	3	0,003
cg0581	<i>rpsL</i>	30S Ribosomalprotein S12	0,182	0,238	0,071	0,146	3	0,023
cg0582	<i>rpsG</i>	30S Ribosomalprotein S7	0,210	0,173	0,078	0,142	3	0,015
cg0583	<i>fusA</i>	Elongationsfaktor EF-2/G	0,402	0,448	0,386	0,411	3	0,002
cg0589		putativer Siderophor-ABC-Transporter, ATP-bindend	1,255	1,531	1,789	1,509	3	0,011
cg0593	<i>rpsJ</i>	30S Ribosomalprotein S10	0,071	0,199	0,110	0,116	3	0,012
cg0594	<i>rplC</i>	50S Ribosomalprotein L3	0,214	0,453	0,110	0,220	3	0,046
cg0608	<i>rplN</i>	50S Ribosomalprotein L14	0,215	0,200	0,054	0,133	3	0,030
cg0609	<i>rplX</i>	50S Ribosomalprotein L24	0,244	0,264	0,070	0,165	3	0,035

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg0612	<i>dkg</i>	2,5-Diketo-D-gluconsäure-Reductase	1,926	1,717	4,647	2,486	3	0,032
cg0625		putatives sekretiertes Protein	0,099	0,017	0,007	0,022	3	0,023
cg0632	<i>rpmD</i>	50S Ribosomalprotein L30	0,195	0,475	0,149	0,240	3	0,040
cg0647	<i>secY</i>	Preprotein Translocase, Untereinheit	0,571	0,615	0,402	0,521	3	0,049
cg0652	<i>rpsM</i>	30S Ribosomalprotein S13	0,153	0,233	0,120	0,162	3	0,008
cg0654		30S Ribosomalprotein S4	0,234	0,445	0,129	0,238	3	0,041
cg0673	<i>rplM</i>	50S Ribosomalprotein L13	0,317	0,281	0,149	0,237	3	0,019
cg0674	<i>prpsI</i>	30S Ribosomalprotein S9	0,163	0,336	0,142	0,198	3	0,018
cg0679		hypothetisches Protein, konserviert	2,179	2,195		2,187	2	0,000
cg0680		hypothetisches Protein, konserviert	1,540	2,672	4,248	2,595	3	0,027
cg0683		putative Permease	4,442	6,601	13,682	7,375	3	0,010
cg0684	<i>popA</i>	Prolylamino-Peptidase A	1,124	2,216	3,200	1,997	3	0,045
cg0685		homolog zu metallabhängiger Protease, putative moleculares Chaperon	0,965	1,301	1,643	1,273	3	0,041
cg0686		Acetyl-Transferase, GNAT-Familie	1,537	1,553	2,073	1,704	3	0,007
cg0687	<i>gcp</i>	putative O-Sialoglycoproteinendo-Peptidase	1,750	1,239	1,878	1,597	3	0,015
cg0690	<i>groE5</i>	Chaperonin 10 Kd Untereinheit	0,493	0,572	0,682	0,577	3	0,046
cg0699	<i>guaB2</i>	Inositol-5-monophosphat-Dehydrogenase	0,267	0,343	0,398	0,331	3	0,009
cg0704		hypothetisches Protein, konserviert	1,976	1,935	6,246	2,880	3	0,038
cg0726		putatives sekretiertes Lipoprotein	1,528	1,549	3,410	2,006	3	0,034
cg0737		putativer ABC-Transporter, sekretiertes Lipoprotein	0,378	0,189	0,102	0,194	3	0,034
cg0740		putatives Membranprotein	1,832	1,262	1,536	1,526	3	0,012
cg0753		putativ sekretiertes Protein	1,075	1,160		1,116	2	0,029
cg0773		putative Exodeoxyribo-Nuclease	0,368	0,263	0,153	0,245	3	0,023
cg0781		putatives Membranprotein	2,251	1,730	6,715	2,968	3	0,041
cg0782	<i>dac</i>	D-Alanyl-D-alanin-Carboxypeptidase	1,454	1,467		1,461	2	0,000
cg0783		hypothetisches Protein, konserviert	0,186	0,183	0,077	0,138	3	0,014
cg0786	<i>upp</i>	Uracilphosphoribosyl-Transferase	0,193	0,210	0,190	0,198	3	0,000
cg0790	<i>lpdA</i>	Dihydrolipamid-Dehydrogenase	0,312	0,391	0,532	0,402	3	0,026
cg0799		hypothetisches Protein, konserviert	0,442	0,412	0,257	0,360	3	0,023
cg0800		Transkriptionsaktivator des Propionatcatabolismus, MerR/HTH_3-Familie	0,389	0,188	0,122	0,207	3	0,030
cg0807		hypothetisches Protein, konserviert	1,217	1,153	2,144	1,443	3	0,043
cg0809	<i>mof</i>	putatives Maf-ähnliches Protein	0,230	0,289	0,124	0,202	3	0,017
cg0831	<i>tusG</i>	Trehaloseaufnahmesystem, ABC-Typ, Permease	0,213	0,142	0,353	0,221	3	0,021
cg0832	<i>tusF</i>	Trehaloseaufnahmesystem, ABC-Typ, membrandurchspannendes Protein	0,142	0,157	0,397	0,207	3	0,028
cg0833		putatives Membranprotein, involviert im Trehaloseaufnahmesystem, konserviert	0,181	0,470	0,144	0,231	3	0,040
cg0834	<i>tusE</i>	Trehaloseaufnahmesystem, ABC-Typ, bakterielles extrazelluläres bindendes Protein	0,055	0,061	0,183	0,085	3	0,015
cg0839		hypothetisches Protein	1,662	1,687	2,257	1,849	3	0,006
cg0844		putatives Typ II Restriktionsenzym, Methylaseuntereinheit	0,241	0,188	0,212	0,213	3	0,001
cg0845		putative Superfamilie II DNA/RNA-Helicase, SNF2-Familie	0,249	0,509	0,302	0,337	3	0,030
cg0858		putativ sekretiertes Protein	1,265	1,230	2,010	1,462	3	0,028
cg0876	<i>sigH</i>	RNA-Polymerase sigma-70 Faktor, ECF-Familie	0,468	0,519	0,322	0,428	3	0,028
cg0877		putativer Anti-sigma Faktor	0,458	0,511	0,461	0,476	3	0,002
cg0881	<i>rhlE</i>	mögliche ATP-abhängige RNA-Helicase	1,279	1,664	1,283	1,398	3	0,010
cg0885		putative Helicase, UvrD/Rep-Familie		1,819	1,725	1,771	2	0,007
cg0892		hypothetisches Protein cg0892	1,810	4,122	5,710	3,492	3	0,024
cg0895		hypothetisches Protein cg0895	1,030	1,603	1,234	1,268	3	0,030
cg0896		putatives Membranprotein		2,545	3,120	2,818	2	0,024
cg0898	<i>pdxS</i>	Pyridoxal-5'-Phosphat-PLP-Synthase Untereinheit	0,104	0,070	0,010	0,042	3	0,028
cg0906		hypothetisches Protein	0,998	1,652	1,822	1,443	3	0,039
cg0908		putatives sekretiertes Protein		1,024	1,129	1,075	2	0,043
cg0915	<i>ftsX</i>	putatives Zellteilungprotein, FtsX-Familie	0,573	0,361	0,242	0,368	3	0,049
cg0918		putative Uroporphyrin-III C-Methyl-Transferase	1,108	1,089	1,706	1,272	3	0,031
cg0919	<i>tnp18a</i>	Transposase	2,208	1,374	3,612	2,221	3	0,038

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg0924		putativer ABC-Typ Eisen-Siderophor-Transporter, substratbindendes Lipoprotein	0,050	0,118	0,006	0,032	3	0,036
cg0936	<i>rpf1</i>	Promotionsfaktor	0,146	0,030	0,059	0,063	3	0,016
cg0938		Kälteschockprotein	0,377	0,549	0,467	0,459	3	0,021
cg0948	<i>serC</i>	Phosphoserinamino-Transferase	0,208	0,416	0,105	0,209	3	0,041
cg0949	<i>gltA</i>	Citrat-Synthase	0,134	0,225	0,100	0,145	3	0,010
cg0953	<i>mctC</i>	Monocarboxylsäuretransporter	0,247	0,142	0,244	0,205	3	0,009
cg0957	<i>fos-IB</i>	Fettsäuresynthase, Fas-I-Typ, nicht essenziell	0,145	0,278	0,288	0,226	3	0,016
cg0964		Mycoredoxin 1	0,920	1,262	1,084	1,080	3	0,032
cg0965	<i>folA</i>	Dihydrofolat-Reductase	1,358	1,179	1,078	1,199	3	0,011
cg0966	<i>thyA</i>	Thymidylat-Synthase	1,045	1,629	2,212	1,556	3	0,042
cg0967	<i>cysQ</i>	3'-Phosphoadenosin-5'-phosphosulfate (PAPS) 3'-Phosphatase	1,860	3,079	4,005	2,841	3	0,014
cg0968		putative ATP-abhängige Helicase		1,330	1,307	1,318	2	0,000
cg0973	<i>pgl</i>	Glucose-6-phosphat-Isomerase	1,701	1,891	4,523	2,441	3	0,032
cg0990	<i>rpmG</i>	50S Ribosomalprotein L33	0,299	0,352	0,219	0,285	3	0,009
cg0991	<i>rpmB</i>	50S Ribosomalprotein L28	0,153	0,237	0,280	0,217	3	0,010
cg0994	<i>rpmE</i>	50S Ribosomalprotein L31	0,160	0,148	0,081	0,124	3	0,007
cg0996	<i>cgtR2</i>	Zwei-Komponenten-Antwortregulator	1,166	0,931	0,940	1,007	3	0,033
cg1001	<i>mscL</i>	großer leitfähiger mechanosensitiver Kanal, MscL-Familie	0,373	0,181	0,469	0,316	3	0,045
cg1002		putatives sekretorisches Protein, konserviert	3,886	3,298	6,063	4,267	3	0,005
cg1003		5-Formyltetrahydrofolat-cyclo-Ligase	2,599	3,674	7,995	4,242	3	0,018
cg1014	<i>pmt</i>	Glycosyl-Transferase	0,245	0,183	0,031	0,111	3	0,048
cg1017	<i>metS</i>	Methionyl-tRNA-Synthetase	0,430	0,614	0,320	0,439	3	0,049
cg1024	<i>tnp7a</i>	Transposase	2,109	1,370	2,873	2,025	3	0,023
cg1027	<i>dld</i>	D-Lactat-Dehydrogenase		2,083	1,975	2,028	2	0,006
cg1044		hypothetisches Protein, konserviert	1,761	1,068	2,020	1,560	3	0,034
cg1045		hypothetisches Protein, konserviert	1,671	3,360	9,281	3,735	3	0,043
cg1049		putative Enoyl-CoA-Hydrotase/Isomerase		1,864	1,976	1,919	2	0,008
cg1052	<i>cmt3</i>	Corynomycyltransferase	0,172	0,243	0,078	0,149	3	0,020
cg1053		Transkriptionsregulator, TetR-Familie	0,263	0,135	0,114	0,159	3	0,013
cg1060	<i>prfC</i>	putativer Peptidkettenentlassungsfaktor 3 EF-G	0,252	0,495	0,289	0,330	3	0,027
cg1071	<i>pth1</i>	Peptidyl-tRNA-Hydrolase	1,164	1,037	1,433	1,200	3	0,021
cg1072	<i>rplV</i>	50S Ribosomalprotein L25	0,107	0,132	0,056	0,092	3	0,007
cg1075	<i>prsa</i>	Ribose-phosphatpyrophospho-Kinase	0,394	0,419	0,160	0,298	3	0,046
cg1076	<i>glmU</i>	putativer UDP-N-Acetylglucosamin-Pyrophosphorylase	0,085	0,143	0,044	0,081	3	0,011
cg1080		putative Multikupfer-Oxidase	3,717	4,343	8,181	5,093	3	0,008
cg1081		putatives ABC-Typ Multidrugtransportsystem, ATPase-Komponente	4,442	3,626	9,647	5,376	3	0,011
cg1082		putatives Membranprotein	2,398	3,200	6,651	3,709	3	0,018
cg1084	<i>cgtR10</i>	Zweikomponenten-Antwort-Regulator	3,322	1,703	5,705	3,183	3	0,028
cg1091		hypothetisches Protein	0,053	0,292	0,040	0,086	3	0,036
cg1096		hypothetisches Protein		0,580	0,542	0,561	2	0,030
cg1108	<i>porC</i>	putatives sekretiertes Protein	0,283	0,118	0,174	0,180	3	0,015
cg1109	<i>porB</i>	Anion-spezifischer Porinvorläufer	0,369	0,439	0,177	0,306	3	0,040
cg1111	<i>eno</i>	Enolase, Phosphopyruvat-Hydratase	1,540	2,951	4,579	2,751	3	0,028
cg1112		putativer Septumformationsinitiator, sekretiertes Protein, FtsB-Familie	1,207	1,301	1,984	1,460	3	0,027
cg1113		hypothetisches Protein, konserviert	1,310	2,487	1,869	1,826	3	0,021
cg1115	<i>ppx2</i>	Exopol-Phosphatase	1,363	2,254	2,114	1,866	3	0,015
cg1123	<i>greA</i>	Transcriptionselongationsfaktor	0,280	0,279	0,082	0,186	3	0,037
cg1127		putative Mycthoil-Amidase	0,214	0,414	0,252	0,281	3	0,018
cg1128		putatives Protein, ähnlich zu Ribosomalprotein S2	0,422	0,347	0,510	0,421	3	0,016
cg1131		hypothetisches Protein, konserviert	1,017	1,467	1,635	1,346	3	0,030
cg1139		putative allophanate Hydrolase Untereinheit 2	0,252	0,205	0,036	0,123	3	0,048
cg1140		putative allophanate Hydrolase Untereinheit 1	0,116	0,073	0,035	0,066	3	0,010
cg1141		putatives Protein, UPF0271-Familie, konserviert	0,198	0,152	0,122	0,154	3	0,004

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg1149		hypothetisches Protein	1,946	1,197	1,446	1,499	3	0,021
cg1157	<i>fbp</i>	Fructose-1,6-Bisphosphatase, Klasse II, essentiell für Gluconeogenese	1,070	1,987	2,296	1,697	3	0,039
cg1161		hypothetisches Protein	1,158	1,290	1,282	1,222	2	0,035
cg1162	<i>xseB</i>	Exodeoxyribonuclease VII keine Untereinheit	1,218	1,145	2,083	1,427	3	0,041
cg1163	<i>xseA</i>	Exodeoxyribonuclease VII große Untereinheit	1,415	1,223	1,637	1,415	3	0,009
cg1172		putatives Protein, konserviert	0,899	1,010	0,856	0,919	3	0,033
cg1185	<i>tnp10b</i>	Transposasefragment	1,627	1,683	1,655	1,655	2	0,003
cg1187	<i>tnp10a</i>	Transposasefragment	2,505	1,506	6,699	2,934	3	0,046
cg1190		hypothetisches Protein	1,672	2,051	5,165	2,607	3	0,036
cg1202		hypothetisches Protein, konserviert	1,790	1,241	3,055	1,894	3	0,037
cg1208		hypothetisches Protein, konserviert	2,456	1,362	3,661	2,305	3	0,031
cg1221		hypothetisches Protein, konserviert	1,185	1,337	1,485	1,330	3	0,007
cg1232		hypothetisches Protein, LmbE-Familie, konserviert	2,036	1,011	1,632	1,498	3	0,042
cg1236	<i>tpx</i>	Thiolperoxidase	1,479	1,584	4,306	2,161	3	0,048
cg1240		hypothetisches Protein	0,463	0,619	0,447	0,504	3	0,027
cg1243		putative sekretierte trypsin-ähnliche Serin-Protease, beinhaltet C-terminale PDZ-Domäne	0,508	0,587	0,552	0,548	3	0,007
cg1244	<i>arsC4</i>	Arsenat-Reductase, Glutaredoxin-Familie	0,389	0,222	0,501	0,351	3	0,041
cg1248		putative GTPase involviert in der Stressantwort	0,315	0,188	0,119	0,191	3	0,019
cg1250	<i>mshB</i>	putative Deacetylase	0,816	0,965	0,878	0,884	3	0,049
cg1253	<i>dapC</i>	N-Succinyl-2,6-diaminopimelatamino-Transferase	0,630	0,487	0,451	0,517	3	0,030
cg1255		putative NH Endonuclease, konserviert	1,094	1,075	1,085	1,085	2	0,000
cg1259	<i>dapD2</i>	putative Tetrahydrodipicolinat-N-succinyltransferase	3,398	1,517	2,332	2,291	3	0,021
cg1261		Lysinedecarboxylaseprotein	1,397	1,241	1,317	1,317	2	0,033
cg1263		putative Glycosyl-Transferase involviert in Zellwandbiogen.	2,818	1,462	3,722	2,484	3	0,026
cg1264		hypothetisches Protein, konserviert	1,371	1,426	1,398	1,398	2	0,005
cg1265		hypothetisches Protein, konserviert	1,105	2,409	3,360	2,075	3	0,047
cg1266	<i>rrmA</i>	rRNA-Guanine-N1-methyl-Transferase	1,463	1,438	2,779	1,802	3	0,029
cg1277		putatives Membranprotein, konserviert	2,287	2,330	8,007	3,494	3	0,034
cg1278		putatives sekretiertes Protein, konserviert	1,751	2,082	2,463	2,078	3	0,005
cg1279		putatives sekretorisches Protein	4,920	6,418	15,107	7,813	3	0,010
cg1282		hypothetisches Protein, konserviert	1,166	1,658	1,717	1,492	3	0,016
cg1283	<i>arpE</i>	Shikimat-5-Dehydrogenase	1,149	1,906	1,720	1,556	3	0,022
cg1284	<i>lipT</i>	Typ B Carboxylesterase	1,913	2,679	9,066	3,595	3	0,041
cg1285		hypothetisches Protein, konserviert	1,688	2,345	4,056	2,523	3	0,022
cg1286		hypothetisches Protein, konserviert	1,504	1,216	2,322	1,619	3	0,030
cg1287		hypothetisches Protein, konserviert	2,321	1,360	3,278	2,179	3	0,028
cg1290	<i>metE</i>	5-Methyltetrahydropteroylglutamat-homocysteinmethyl-Transferase	0,459	0,452	0,218	0,356	3	0,044
cg1291		putatives Membranprotein	4,065	6,340	16,093	7,458	3	0,015
cg1295		putative Hydrolase oder Acyltransferase (alpha/beta Hydrolase Superfamilie)	2,859	1,958	1,990	2,233	3	0,006
cg1298	<i>cydC</i>	ABC-Transporter, Untereinheit I	1,223	1,372	1,471	1,351	3	0,004
cg1308		Transkriptionsregulator, TetR-Familie	0,241	0,443	0,130	0,240	3	0,041
cg1314	<i>putP</i>	Prolintransportsystem	0,051	0,110	0,277	0,116	3	0,030
cg1327		putativer Transkriptionsregulator, Crp-Familie	1,938	3,656	14,307	4,662	3	0,046
cg1332		putative sekretorisches Hydrolase	0,161	0,121	0,063	0,107	3	0,010
cg1334	<i>lysA</i>	Diaminopimelat-Decarboxylase	0,135	0,145	0,055	0,102	3	0,012
cg1342	<i>narJ</i>	Nitratreductase, delta-Untereinheit, Assemblierungsfaktor	1,784	2,475	5,994	2,980	3	0,032
cg1344	<i>narG</i>	Nitratreductase, alpha-Untereinheit, Mo-Cofaktor	2,046	3,902	7,553	3,921	3	0,025
cg1345	<i>narK</i>	Nitrat/Nitritantporter	2,702	3,168	15,803	5,133	3	0,039
cg1350	<i>mob</i>	putatives Molybdopterin-guanidinucleotidbiosyntheseprotein	1,292	2,176	4,125	2,264	3	0,042
cg1352	<i>maaA</i>	Molybdenum-cofaktorbiosyntheseprotein A	2,774	2,506	7,351	3,711	3	0,022
cg1371		putative Nuclease, RecB-Familie	0,935	1,047	0,845	0,939	3	0,041
cg1375		putatives Thioredoxin	1,153	1,395	0,936	1,146	3	0,037
cg1381	<i>glgB</i>	Glucogen verzweigendes Enzym	1,174	1,948	1,897	1,631	3	0,022

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg1383		putativer ABC-Typ Molybdenumtransportsystem, ATPase Komponente	1,204	2,312	3,846	2,204	3	0,044
cg1387	<i>fixB</i>	Elektronentransferflavoprotein, alpha Untereinheit, ETFA putativer Transkriptionsregulator, CRO/Ci-Familie, HTA_3-Familie	0,264	0,566	0,229	0,325	3	0,046
cg1392		putative DNA-Polymerase III Untereinheit epsilon	1,511	3,279	7,176	3,288	3	0,042
cg1400		putative DNA-Polymerase III Untereinheit epsilon	1,083	1,182	1,168	1,144	3	0,002
cg1409	<i>pfkA</i>	6-Phosphofructo-Kinase	3,153	5,120	4,018	4,268	2	0,046
cg1417		putative Acetyltransferase	0,188	0,447	0,228	0,268	3	0,028
cg1426		putative Glutathion S-Transferase	2,000	1,270	1,963	1,709	3	0,016
cg1432	<i>ilvD</i>	Dihydroxysäure-Dehydratase	0,895	1,073	1,076	1,011	3	0,022
cg1435	<i>ilvB</i>	Acetolactatsynthase I, AHAS, große Untereinheit	0,334	0,310	0,249	0,296	3	0,004
cg1436	<i>ilvN</i>	Acetolactatsynthase, AHAS, kleine Untereinheit	0,320	0,289	0,178	0,255	3	0,013
cg1437	<i>ilvC</i>	Ketolsäurereducto-Isomerase	0,367	0,174	0,478	0,312	3	0,049
cg1449		hypothetisches Protein, konserviert	1,015	1,294	1,567	1,272	3	0,028
cg1452		hypothetisches Protein	2,093	1,786	3,021	2,243	3	0,010
cg1453	<i>leuB</i>	3-Isopropylmalat-Dehydrogenase	1,315	1,097	2,127	1,453	3	0,042
cg1454		putativer aliphatische Sulfonataufnahmetransporter (ABC), sekretiertes substanzbindendes Protein	1,004	1,089	1,089	1,046	2	0,039
cg1462	<i>entC</i>	Isochorismat-Synthase	0,380	0,194	0,190	0,241	3	0,018
cg1466		putatives sekretiertes Protein	1,304	1,240	2,198	1,526	3	0,032
cg1479	<i>malP</i>	Maltodextrin-Phosphorylase	0,138	0,161	0,064	0,112	3	0,010
cg1484		putatives sekretiertes Protein	3,354	2,880	16,655	5,439	3	0,037
cg1485		putative metallabhängige Phosphohydrolase, RelA/Spot Homolog	2,353	1,928	7,720	3,271	3	0,039
cg1486	<i>ltbR</i>	Leucin- und Tryptophanbiosyntheseregulator, Transkriptionsrepressor, IclR-Familie	1,591	3,267	7,001	3,314	3	0,038
cg1495	<i>thiL</i>	Thiaminmonophosphat-Kinase	1,409	1,524	3,047	1,870	3	0,034
cg1496	<i>ung</i>	Uracil-DNA-Glycosylase	1,370	1,853	1,969	1,710	3	0,009
cg1501	<i>coaD</i>	Phosphopantetheinadeninyl-Transferase	1,134	1,107	1,878	1,331	3	0,043
cg1503		putatives ABC-Typ Aminosäuretransportsystem, Permeasekomponente	0,442	0,246	0,123	0,237	3	0,043
cg1504		putatives ABC-Typ Aminosäuretransportsystem, Sekretionskomponente	0,175	0,209	0,025	0,097	3	0,047
cg1515	<i>tnp25a</i>	Transposase, CGP1 Region	1,747	1,101	1,377	1,384	3	0,024
cg1518		hypothetisches Protein CGP1 Region	1,650	1,420	1,621	1,531	2	0,034
cg1525	<i>polA</i>	DNA-Polymerase I	2,104	1,605	1,838	2,163	2	0,049
cg1530		putative SAM-abhängige Methyl-Transferase	0,674	0,646	0,588	0,635	3	0,019
cg1551	<i>uspA1</i>	Universalstressprotein, Nucleotid-bindende Protein	0,564	0,496	0,545	0,534	3	0,005
cg1564	<i>rpmI</i>	50S Ribosomalprotein L35	0,202	0,132	0,099	0,138	3	0,007
cg1568	<i>ugpA</i>	ABC-Typ Sn-Glycerol-3-phosphattransportsystem, Permease	1,394	1,636	1,510	1,510	2	0,037
cg1577		putative sekretierte Hydrolase	0,144	0,286	0,034	0,112	3	0,046
cg1579		putatives sekretiertes Protein	0,207	0,158	0,306	0,216	3	0,011
cg1584	<i>argF</i>	Ornithinacarbamoyl-Transferase	1,269	5,460	4,080	3,046	3	0,045
cg1585	<i>argR</i>	Transkriptionsrepressor der Argininosynthese, ArgR-Familie	1,322	3,728	3,686	2,628	3	0,035
cg1592		hypothetisches Protein, konserviert	1,262	1,178	2,123	1,467	3	0,037
cg1594	<i>tyrS</i>	Tyrosyl-tRNA-Synthetase	1,437	1,457	2,258	1,678	3	0,017
cg1599		hypothetisches Protein	1,705	1,505	1,476	1,559	3	0,002
cg1601	<i>ppnK</i>	anorganische Polyphosphat/ATP-NAD-Kinase	1,672	1,546	1,608	1,608	2	0,015
cg1608	<i>xerD</i>	Tyrosin-Recombinase	0,834	0,926	0,973	0,909	3	0,031
cg1613	<i>sseA2</i>	Sulfur-Transferase zu Rhodanese zugeordnet	0,395	0,561	0,278	0,395	3	0,041
cg1614		putatives Segregations- und Kondensationsprotein	0,217	0,194	0,166	0,191	3	0,001
cg1619		putativer DNA-Gyraseinhibitor oder Transkriptionsregulator, AcaF-Familie	2,158	2,144	4,621	2,776	3	0,019
cg1630	<i>odhI</i>	essentiell für Glutaminverwertung, reguliert ODH-Aktivität	1,379	2,601	3,688	2,365	3	0,030
cg1633		putativer Transkriptionsregulator, MerR-Familie	1,320	1,289	2,248	1,564	3	0,030
cg1635		putatives Membranprotein	2,987	2,070	7,775	3,636	3	0,029
cg1639		putatives Membranprotein beinhaltet CBS-Domäne	1,621	1,888	1,367	1,611	3	0,008

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg1643	<i>gnd</i>	6-Phosphogluconat-Dehydrogenase	1,628	1,046	1,455	1,353	3	0,025
cg1646		putatives ABC-Typ Multidrugtransportsystem, ATPase Komponente	2,107	1,607	2,629	2,073	3	0,010
cg1654	<i>thiD1</i>	Thiaminphosphat-Pyrophosphorylase	1,214	2,507	3,554	2,212	3	0,039
cg1655	<i>thiM</i>	Hydroxyethylthiazol-Kinase		4,543	8,182	6,097	2	0,045
cg1656	<i>ndh</i>	NADH-Dehydrogenase Typ II	0,216	0,321	0,215	0,246	3	0,007
cg1668		putatives Membranprotein		0,267	0,251	0,259	2	0,007
cg1669		putatives sekretierendes Protein	0,205	0,425	0,107	0,210	3	0,041
cg1671		putative membranassoziierte GTPase		0,871	0,919	0,895	2	0,049
cg1675		putatives Membranprotein		1,748	2,145	1,936	2	0,035
cg1680		putative kurzkettige Dehydrogenase oder Reductase		1,016	0,962	0,989	2	0,028
cg1685	<i>totA</i>	Zwilling Arginin-Translocase Protein A	0,126	0,314	0,129	0,172	3	0,019
cg1702		hypothetisches Protein	2,079	1,316	1,075	1,433	3	0,043
cg1718		putatives phospholipidbindendes Protein	2,601	1,230	2,860	2,092	3	0,032
cg1722		putative N-Acetylglutaminsynthaseaktivität	2,464	1,119	2,006	1,769	3	0,036
cg1724	<i>meaB</i>	Zusatzprotein der Methylmalonyl-CoA-Mutase	0,214	0,227	0,210	0,217	3	0,000
cg1725	<i>mutA</i>	Methylmalonyl-CoA-Mutase, alpha Untereinheit	0,165	0,354	0,148	0,205	3	0,020
cg1734	<i>hemH</i>	eisenchelätiger, essenziell	2,397	3,401	3,592	3,082	3	0,004
cg1739		Glutaminamido-Transferase	1,609	1,386	2,733	1,827	3	0,026
cg1740		putative Nucleosididiphosphatzucker-Epimerase	2,110	1,264	4,074	2,215	3	0,044
cg1744	<i>pacL</i>	Kationtransportierende ATPase	3,293	3,963	33,661	7,602	3	0,046
cg1746		putatives Membranprotein, CGP2 Region		1,638	1,400	1,514	2	0,036
cg1758		putatives Membranprotein	1,434	2,010	3,616	2,184	3	0,030
cg1759		putatives Fe-S-clusteraufbauprotein	2,008	1,857	1,600	1,814	3	0,003
cg1760	<i>sufU</i>	Cysteindesulf-Hydase	1,013	1,774	2,058	1,547	3	0,042
cg1769	<i>ctaA</i>	Cytochromoxidase Aufbauprotein	2,019	1,844	1,363	1,719	3	0,010
cg1774	<i>tkf</i>	Transketolase	1,110	1,577	1,133	1,256	3	0,025
cg1779	<i>opcA</i>	Untereinheit der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase	0,288	0,518	0,308	0,358	3	0,027
cg1787	<i>ppc</i>	Phosphoenolpyruvatcarboxylase	2,587	3,963	7,025	4,160	3	0,014
cg1789	<i>tpi</i>	Triosephosphat-Isomerase	3,177	9,668	9,929	6,731	3	0,014
cg1790	<i>pgk</i>	Phosphoglycerat-Kinase	2,776	8,679	8,356	5,861	3	0,016
cg1791	<i>gap</i>	Glyceraldehyd-3-phosphatdehydrogenase	5,635	6,383	33,276	10,617	3	0,022
cg1800	<i>ribG</i>	putative bifunktionale riboflavinspezifische Deaminase/Reductase	1,381	1,199	1,000	1,183	3	0,022
cg1802	<i>fmv</i>	putative 16S rRNA m[5]C 967 Methyl-Transferase	1,182	2,162	2,951	1,961	3	0,037
cg1803	<i>fnt</i>	Methionyl-tRNA-formyl-Transferase	2,030	1,836	3,051	2,249	3	0,010
cg1804	<i>def</i>	Peptid-Deformylase		1,970	1,903	1,936	2	0,002
cg1808		hypothetisches Protein	1,570	1,737	3,167	2,052	3	0,023
cg1810	<i>gmK</i>	Guanylat-Kinase	0,340	0,164	0,147	0,202	3	0,018
cg1811	<i>ihf</i>	putativer Integrationsfaktor, konserviert	0,219	0,281	0,075	0,166	3	0,032
cg1812	<i>pyrF</i>	Orotidin 5'-phosphat-Decarboxylase		1,975	1,729	1,848	2	0,023
cg1819		putative Nucleosididiphosphatzucker-Epimerase, SulA-Familie	1,442	1,233	1,977	1,520	3	0,019
cg1825	<i>efp</i>	Elongationsfaktor P	0,172	0,293	0,196	0,215	3	0,008
cg1826	<i>pepQ</i>	XAA-pro-Amino-Peptidase	0,100	0,150	0,193	0,143	3	0,006
cg1835	<i>aroE3</i>	Shikimat-5-Dehydrogenase	0,043	0,124	0,064	0,070	3	0,008
cg1836		putatives sekretiertes substanzbindendes Protein, ähnlich wie Aminodeoxychorismatylase	0,128	0,152	0,078	0,115	3	0,005
cg1838	<i>aloS</i>	Alanyl-tRNA-Synthetase	0,473	0,361	0,194	0,321	3	0,040
cg1842		putative sekretierte Metalloprotease	0,159	0,236	0,107	0,159	3	0,010
cg1843		putative Superfamilie II DNA/RNA-Helicase, SNF2-Familie		1,149	1,079	1,113	2	0,023
cg1846		putativer Transkriptionsregulator, TetR-Familie	0,254	0,507	0,182	0,286	3	0,041
cg1848		putative Coenzym F420-abhängiges N5,N10-Methylenetetrahydromethanopterin-Reductase oder Flavin-abhängig	0,626	0,676	0,667	0,656	3	0,008
cg1861	<i>rel</i>	ppGpp-Synthetase, ppGpp-Pyrophosphorylase		1,337	1,156	1,243	2	0,047
cg1867	<i>secD</i>	Preprotein Translocase, Untereinheit	0,109	0,254	0,081	0,131	3	0,018
cg1870	<i>rwvA</i>	holliday junction DNA-Helicasemotorprotein		1,453	1,371	1,411	2	0,012

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg1873	<i>tesB2</i>	putative Acyl-CoA-thio-Esterase II	0,393	0,277	0,233	0,294	3	0,012
cg1879		putative Hydrolase, HIT-Familie	1,147	1,683	1,065	1,271	3	0,035
cg1884		hypothetisches Protein	3,005	2,376	1,643	2,272	3	0,013
cg1894		hypothetisches Protein, CGP3 Region	0,299	0,239	0,307	0,280	3	0,003
cg1898		hypothetisches Protein, CGP3 Region	1,750	1,188	2,266	1,677	3	0,027
cg1902		putatives sekretorisches Protein, CGP3 Region	1,827	2,103	2,765	2,198	3	0,006
cg1903		putatives ABC-Typ Multidrugtransportsystem, ATPase Komponente	1,045	1,235	1,760	1,315	3	0,036
cg1904		putatives Membranprotein, CGP2 Region	1,140	1,172	0,847	1,042	3	0,049
cg1910		putatives sekretiertes oder Membranprotein, CGP3 Region	0,217	0,297	0,047	0,145	3	0,050
cg1911		putativ sekretiertes Protein, CGP3 Region	0,192	0,024	0,004	0,027	3	0,047
cg1931		putativ sekretiertes Protein, CGP3 Region	2,436	1,118	2,029	1,768	3	0,036
cg1943		hypothetisches Protein, CGP3 Region		0,954	0,900	0,927	2	0,042
cg1961		hypothetisches Protein, CGP3 Region	1,712	1,973		1,838	2	0,025
cg1962		putatives Membranprotein, CGP2 Region	0,508	0,544	0,548	0,533	3	0,001
cg1970		hypothetisches Protein, CGP3 Region	1,620	1,960		1,782	2	0,035
cg1975		hypothetisches Protein, CGP3 Region	2,025	1,901	6,196	2,879	3	0,037
cg1977		putativ sekretiertes Protein, CGP3 Region	2,218	1,786	1,237	1,699	3	0,021
cg1978		hypothetisches Protein, CGP3 Region	1,196	0,951	1,224	1,103	3	0,030
cg1990		putative NUDIX Hydrolase, CGP3 Region	1,278	1,285	2,652	1,633	3	0,045
cg1996	<i>cglIM</i>	Modifikations-Methylase	0,039	0,266	0,051	0,080	3	0,032
cg1997	<i>cglIR</i>	Typ II Restriction-Endonuclease	0,224	0,175	0,035	0,111	3	0,040
cg2001		hypothetisches Protein, CGP3 Region		3,157	4,816	3,899	2	0,041
cg2002		hypothetisches Protein, CGP3 Region	1,416	1,364	1,265	1,347	3	0,001
cg2029		hypothetisches Protein, CGP3 Region	2,293	1,352	2,053	1,853	3	0,016
cg2037		hypothetisches Protein, CGP3 Region	1,424	1,594	4,082	2,101	3	0,047
cg2043		hypothetisches Protein, CGP3 Region	0,256	0,278	0,376	0,299	3	0,007
cg2044		putativ sekretiertes Protein, CGP3 Region	1,588	1,001	1,154	1,224	3	0,038
cg2051		hypothetisches Protein, CGP3 Region	1,487	0,961	1,841	1,380	3	0,046
cg2053		hypothetisches Protein, CGP3 Region	0,256	0,557	0,346	0,367	3	0,041
cg2057		putativ sekretiertes Protein, CGP3 Region	1,091	1,222	1,197	1,168	3	0,003
cg2058		hypothetisches Protein, CGP3 Region	1,074	1,480	1,228	1,249	3	0,017
cg2059		putativ sekretiertes Protein, CGP3 Region	1,510	1,724	2,098	1,761	3	0,006
cg2068		hypothetisches Protein, CGP3 Region	1,142	1,059		1,100	2	0,030
cg2078		Peptidmethioninsulfoxid-Reductase-ähnliches Protein	1,250	1,105	1,300	1,216	3	0,005
cg2079		putative Chlorit-Dismutase, konserviert		2,335	2,544	2,437	2	0,010
cg2086	<i>dut</i>	Deoxyuridine-5'-triphosphatnucleotid-Hydrolase	1,768	2,425	1,422	1,827	3	0,015
cg2098		hypothetisches Protein	1,193	1,661	1,061	1,281	3	0,031
cg2103	<i>dtxR</i>	Diphtheriatoxinrepressor	1,474	1,912	1,955	1,766	3	0,006
cg2105		hypothetisches Protein	1,773	2,109		1,933	2	0,029
cg2109	<i>oxyR</i>	Hydrogenperoxidesensorregulator, Lys-Familie	1,478	2,039	2,815	2,039	3	0,017
cg2124		putativer Transkriptionsregulator, Lys-Familie	0,148	0,107	0,800	0,078	3	0,021
cg2125	<i>uraA</i>	putative Uracyl-Permease	1,367	1,003	1,167	1,170	3	0,021
cg2127		hypothetisches Protein	0,192	0,360	0,215	0,246	3	0,014
cg2128		putatives sekretiertes oder Membranprotein	2,329	1,259	2,392	1,914	3	0,024
cg2130	<i>miaA</i>	tRNA-delta(2)-isopentenylpyrophosphat-Transferase	0,940	1,473	1,606	1,305	3	0,043
cg2132		hypothetisches Protein, konserviert	0,209	0,397	0,400	0,321	3	0,028
cg2133		putative Acetyl-Transferase, GNAT-Familie		0,642	0,676	0,659	2	0,045
cg2134		putatives Membranprotein	1,578	1,872	3,879	2,254	3	0,030
cg2137	<i>gluB</i>	Glutamataufnahmesystem, ABC-Typ, sekretiertes Bindepotein	0,090	0,127	0,181	0,127	3	0,006
cg2138	<i>gluC</i>	Glutamataufnahmesystem, ABC-Typ, Permease Untereinheit 1	0,363	0,144	0,053	0,141	3	0,046
cg2148	<i>bioM</i>	ATPase-Komponente des energieproduzierenden Moduls des Biotintransporters	1,133	0,896	0,952	0,989	3	0,034
cg2151		putatives Protein, ähnlich zum Phagocytoseprotein A	0,962	0,845	0,839	0,880	3	0,045
cg2158	<i>ftsK</i>	Zellteilungsprotein, wird für die Zellteilung und die Chromosomenpartitionierung benötigt		2,304	2,048	2,172	2	0,017

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg2167	<i>rpsO</i>	30S Ribosomalprotein S15	0,372	0,267	0,140	0,241	3	0,028
cg2172		putative Serine/Threoninespezifische Proteinphosphatase		0,362	0,389	0,376	2	0,014
cg2175	<i>rbfA</i>	Ribosombindungsprotein A		0,965	0,922	0,943	2	0,026
cg2181		ABC-Typ Peptidtransportsystem, sekretierte Komponente	0,015	0,069	0,242	0,063	3	0,045
cg2182		ABC-Typ Peptidtransportsystem, Permeasekomponente	0,052	0,148	0,013	0,046	3	0,029
cg2194	<i>gor</i>	Dihydroxyamidi-Dehydrogenase	1,207	1,142	1,730	1,336	3	0,025
cg2195		putativ sekretiertes oder Membranprotein	0,412	0,262	0,461	0,368	3	0,025
cg2196		putativ sekretiertes oder Membranprotein	0,281	0,454	0,331	0,348	3	0,015
cg2199	<i>pbp</i>	penicillinbindendes Protein, putative D-Alanyl-D-alanincarboxypeptidase	0,336	0,312	0,282	0,309	3	0,001
cg2223		putativ sekretiertes oder Membranprotein, ähnlich zur Metalloendopeptidase	1,637	1,793		1,713	2	0,016
cg2247		hypothetisches Protein	1,221	1,369	2,733	1,659	3	0,046
cg2252		putative doppelsträngige beta-helix-Domäne	3,609	2,447	11,250	4,632	3	0,030
cg2284		Galactose-1-phosphat-uridyl-Transferase	1,276	1,420	1,612	1,429	3	0,006
cg2291	<i>pyk</i>	Pyruvat-Kinase	2,162	2,450	3,390	2,593	3	0,005
cg2302		putatives Membranprotein	1,295	1,043	1,169	1,164	3	0,010
cg2303	<i>hisB</i>	Imidazoleglycerol-phosphat-Dehydratase	1,079	1,144	1,684	1,276	3	0,034
cg2304	<i>hisC</i>	Histidinol-phosphataminotransferase	1,040	1,781	1,880	1,516	3	0,035
cg2305	<i>hisD</i>	Histidinol-Dehydrogenase	1,265	2,835	2,061	1,948	3	0,029
cg2308		putatives sekretorisches Protein	0,111	0,071	0,115	0,097	3	0,003
cg2310	<i>glgX</i>	Glycogenenzweigungs-enzym	0,264	0,328	0,332	0,306	3	0,003
cg2311		putative SAM-abhängige Methyl-Transferase	1,770	5,964	9,747	4,686	3	0,035
cg2312	<i>gip</i>	putative Hydroxy-pyruvat-Isomerase	2,902	3,107		3,003	2	0,006
cg2323	<i>treY</i>	Maltotriose-6-phosphat-6-epimerase	1,178	2,407	2,605	1,947	3	0,033
cg2324		hypothetisches Protein, konserviert	0,942	1,302	1,566	1,243	3	0,042
cg2340		putatives ABC-Typ Aminosäuretransportsystem, sekretierte Komponente		1,507	1,787	1,641	2	0,035
cg2341		putativer Co/Zn/Cd-Kationtransporter	2,554	1,833	2,336	2,220	3	0,004
cg2342		putative Dehydrogenase	2,523	2,622	5,921	3,396	3	0,017
cg2351		hypothetisches Protein	1,576	1,449		1,511	2	0,018
cg2382		putative GCN5-ähnliche N-Acetyl-Transferase		1,059	0,986	1,022	2	0,036
cg2390		putatives Membranprotein		0,345	0,384	0,364	2	0,022
cg2391	<i>aroG</i>	Phospho-2-dehydro-3-deoxyheptonat-Aldolase	0,999	0,835	1,000	0,941	3	0,038
cg2392		hypothetisches Protein, konserviert		0,668	0,693	0,681	2	0,034
cg2409	<i>ctaC</i>	Cytochrom-aa ₃ -Oxidase, Untereinheit 2	0,273	0,158	0,083	0,153	3	0,021
cg2414	<i>cobT</i>	Nicotinate-nucleotide-dimethylbenzimidazolylphosphoribosyl-Transferase	0,356	0,512	0,368	0,406	3	0,016
cg2417		putative kurzkettige Dehydrogenase/Oxidoreductase	1,695	1,031	1,262	1,289	3	0,035
cg2418	<i>ilvE</i>	verzweigtkettige Aminosäureamino-Transferase	0,554	0,550	0,654	0,584	3	0,019
cg2425	<i>sucE</i>	Succinatexporter	3,869	9,626	16,069	8,427	3	0,014
cg2428		putatives Membranprotein, konserviert	0,927	0,976	0,951	0,951	3	0,001
cg2429	<i>glnA</i>	Glutamine-Synthetase I	0,415	0,614	0,487	0,499	3	0,031
cg2434		putative luciferase-ähnliche Monooxygenase	1,509	2,177	2,698	2,069	3	0,014
cg2437	<i>thrC</i>	Threonin-Synthase	1,214	1,104	1,328	1,212	3	0,006
cg2438		hypothetisches Protein	0,069	0,082	0,007	0,034	3	0,029
cg2444		hypothetisches Protein	0,907	1,296	1,479	1,203	3	0,046
cg2453		putative Exoribonuclease	1,440	1,323	1,487	1,415	3	0,001
cg2454		hypothetisches Protein	1,785	1,476		1,623	2	0,040
cg2455		putative Ribonuclease HI	1,638	3,075	3,471	2,595	3	0,017
cg2456		putatives Zn-Bandprotein, möglicherweise nucleinsäurebindend	1,624	2,196	3,153	2,240	3	0,015
cg2457		hypothetisches Protein, konserviert	1,502	2,072	4,244	2,364	3	0,034
cg2458	<i>pgp2</i>	vorhergesagte Phosphatase, HAD Familie	2,661	3,747	8,342	4,365	3	0,018
cg2459	<i>ptaA</i>	Protein-tyrosine-Phosphatase	2,486	4,991	11,605	5,241	3	0,025
cg2460		putatives Membranprotein	1,775	2,214	3,811	2,465	3	0,018
cg2466	<i>aceE</i>	putative Pyruvat-Dehydrogenase Untereinheit E1	1,079	3,352	2,406	2,057	3	0,050
cg2471		putatives Protein, schwach konserviert	1,830	1,160	3,358	1,925	3	0,048

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg2472		putative Hydrolase oder Acyl-Transferase	2,810	2,998	8,927	4,221	3	0,023
cg2473	<i>acpM</i>	Acylcarrierprotein (ACP)		1,668	1,352	1,502	2	0,049
cg2474	<i>nagD</i>	putative Phosphatase im N-Acetylglucosaminmetabolismus	1,513	4,752	6,737	3,645	3	0,037
cg2475		putative ATPase Komponente des ABC-Transports mit duplizierter ATPase-Domäne	1,210	2,147	2,943	1,970	3	0,034
cg2488		hypothetisches Protein, konserviert	1,580	1,505	2,234	1,745	3	0,011
cg2492	<i>glmS</i>	D-Fructose-6-phosphatamido-Transferase	0,134	0,362	0,133	0,186	3	0,025
cg2496		putativ sekretiertes Protein	1,758	2,358	4,681	2,687	3	0,025
cg2500		putativer Transkriptionsregulator, ArsR-Familie	2,405	3,595	13,056	4,832	3	0,035
cg2521	<i>fadD15</i>	langkettige Fettsäure-CoA-Ligase		1,497	1,303	1,396	2	0,036
cg2523	<i>malQ</i>	4-alpha-Glucano-Transferase	1,467	1,521	1,724	1,567	3	0,002
cg2526		putatives sekretiertes oder Membranprotein	0,424	0,332	0,249	0,327	3	0,015
cg2527	<i>dcp</i>	putative Peptidyl-Dipeptidase A	0,347	0,356	0,385	0,362	3	0,001
cg2535		putativ sekretiertes Protein	1,124	1,127	1,013	1,087	3	0,004
cg2536	<i>metC</i>	Cystathionin-beta-Lyase	1,158	1,251	1,719	1,355	3	0,021
cg2544		putativer Transkriptionsregulator, GntR-Familie	1,683	1,492	1,641	1,603	3	0,001
cg2545		putativ sekretiertes oder Membranprotein	1,642	1,414		1,524	2	0,034
cg2554	<i>rbsK2</i>	putative Ribokinase	2,802	1,857	5,481	3,055	3	0,024
cg2556		putatives eisenreguliertes Membranprotein	1,014	1,177	1,808	1,292	3	0,048
cg2560	<i>aceA</i>	Isoctat-Lyase	0,401	0,495	0,639	0,503	3	0,043
cg2561	<i>thiX</i>	sekretiertes Protein, möglicherweise in Thiaminbiosynthese involviert	0,284	0,465	0,278	0,333	3	0,019
cg2562		putative Serine/Threonine-spezifische Phosphatase	1,229	1,297	2,331	1,549	3	0,038
cg2593		putatives sekretorisches oder Membranprotein	0,462	0,511	0,560	0,510	3	0,008
cg2601		putatives pirin-ähnliches Proteinfragment	1,137	1,029	1,454	1,194	3	0,025
cg2606		hypothetisches Protein, konserviert	2,415	1,293	1,245	1,572	3	0,040
cg2612		putatives Rossmann-fold nucleotidbindendes Protein	2,668	4,273	11,720	5,112	3	0,025
cg2613	<i>mdh</i>	Malat-Dehydrogenase	4,119	5,622	15,185	7,058	3	0,015
cg2614		putativer Transkriptionsregulator, TetR-Familie	0,718	0,626	0,688	0,676	3	0,042
cg2620	<i>clpX</i>	ATP-abhängige Protease, ATP-bindende Untereinheit	1,642	1,671	2,927	2,003	3	0,018
cg2636	<i>cata1</i>	Catechol 1,2-Dioxygenase	0,113	0,147	0,041	0,088	3	0,015
cg2637	<i>benA</i>	Benzoat-1,2-Dioxygenase alpha Untereinheit	0,679	0,684		0,681	2	0,000
cg2644	<i>copP2</i>	ATP-abhängige Clp-Protease proteolytische Untereinheit	1,547	1,665	3,388	2,059	3	0,029
cg2658	<i>rpi</i>	Ribose-5-phosphat-Isomerase B	0,389	0,422	0,394	0,401	3	0,000
cg2661		putative Dithiol-disulfid-Isomerase involviert in Polyketidbiosynthese	0,553	0,631	0,583	0,588	3	0,009
cg2678		putatives ABC-Typ Dipeptidyl/Oligopeptidyl/Nickeltransportsystem, sekretierte Komponente	0,135	0,351	0,090	0,162	3	0,031
cg2680		putative Aminosäuretransferase, Klasse III	0,268	0,363	0,171	0,256	3	0,018
cg2684		putatives Membranprotein, DedA-Familie	3,595	2,847	1,966	2,720	3	0,009
cg2685		putative kurzkettige Dehydrogenase/Reductase	2,580	5,234	10,238	5,170	3	0,020
cg2686		putativer Transkriptionsregulator, TetR-Familie	1,499	1,123	1,280	1,292	3	0,012
cg2692		putative Thioesterase	0,249	0,402	0,182	0,263	3	0,022
cg2705	<i>amyE</i>	putativer ABC-Typ Zuckertransporter	0,282	0,390	0,570	0,397	3	0,042
cg2738	<i>acpS</i>	4'-Phosphopantetheinyl-Transferase	1,123	1,247	0,866	1,067	3	0,047
cg2741		hypothetisches Protein	1,365	1,201	2,702	1,642	3	0,047
cg2765		putatives sekretorisches Protein	0,415	0,432	0,406	0,418	3	0,000
cg2768		putative L-Aminopeptidase/D-Esterase	1,023	1,673	1,335	1,317	3	0,031
cg2777		putatives Membranprotein	0,452	0,318	0,213	0,313	3	0,027
cg2780	<i>ctaD</i>	Cytochrom-aa ₃ -Oxidase, Untereinheit 1	0,189	0,356	0,368	0,291	3	0,023
cg2786	<i>nrdE</i>	Ribonucleotide-diphosphat-Reductase alpha Untereinheit	0,248	0,418	0,240	0,292	3	0,016
cg2787	<i>nrdI</i>	putatives Protein	0,130	0,435	0,366	0,254	3	0,041
cg2789	<i>nrdH</i>	Mycoredoxin 2	0,018	0,168	0,141	0,075	3	0,042
cg2792	<i>nadE</i>	NAD ⁺ -Synthetase	1,373	1,079	0,988	1,135	3	0,029
cg2793		hypothetisches Protein, konserviert	2,099	4,128	15,359	5,105	3	0,042
cg2794		hypothetisches Protein, konserviert	2,258	5,131	15,957	5,697	3	0,036
cg2799	<i>pknE</i>	putativ sekretiertes Protein	0,636	0,624	0,651	0,637	3	0,000
cg2823		putative Dehydrogenase oder ähnliches Protein	2,336	1,994		2,158	2	0,024

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg2838		putative Dithiol-disulfid-Isomerase	2,368	1,993	6,733	3,167	3	0,033
cg2840	<i>actA</i>	CoA-Transferase (Acetat, Propionat, Succinat)	0,057	0,145	0,327	0,139	3	0,039
cg2843	<i>pstB</i>	ABC-Typ Phosphatransportsystem, ATPase Komponente	2,846	1,624	6,529	3,113	3	0,037
cg2845	<i>pstC</i>	ABC-Typ Phosphatransportsystem, Permeasekomponente	3,482	4,033	5,559	4,274	3	0,003
cg2846	<i>pstS</i>	ABC-Typ Phosphatransportsystem, sekretierte Komponente	3,235	6,672	4,389	4,558	3	0,007
cg2847	<i>mshD</i>	Acetyltransferase	1,645	1,635	4,460	2,272	3	0,040
cg2850		hypothetisches Protein, konserviert	1,013	1,065	1,117	1,064	3	0,003
cg2852		putative Aminomethyl-Transferase, GCVT-Homolog	2,490	2,187	3,771	2,738	3	0,008
cg2863	<i>purQ</i>	Phosphoribosylformylglycinamidin-Synthase Untereinheit I	0,309	0,288	0,163	0,244	3	0,015
cg2865	<i>purS</i>	Phosphoribosylformylglycinamidin-Synthase	0,288	0,519	0,164	0,291	3	0,050
cg2868	<i>nuc</i>	putative extrazelluläre Nuclease	1,248	0,949	1,436	1,194	3	0,034
cg2887	<i>phoS</i>	Zweikomponenten-Sensor-Kinase, Phosphatthomöostase	0,228	0,370	0,134	0,224	3	0,026
cg2888	<i>phoR</i>	Zweikomponenten-Antwort-Regulator, Phosphatthomöostase	0,196	0,528	0,258	0,299	3	0,043
cg2890		putatives Aminosäure verarbeitendes Enzym	2,722	2,276	5,963	3,330	3	0,019
cg2894	<i>cgmR</i>	Multidrugresistenz-ähnlicher Transkriptionsfaktor, TetR-Familie	0,433	0,460	0,485	0,459	3	0,001
cg2902		putative Hydrolase der HAD-Superfamilie	1,830	1,733	3,787	2,290	3	0,025
cg2907	<i>otsA</i>	Trehalose-6-phosphat-Synthase	0,823	0,909	0,927	0,885	3	0,029
cg2928	<i>nagB</i>	N-Acetylglucosamine-6-phosphat-Isomerase	0,347	0,370	0,160	0,274	3	0,031
cg2932		putativer Transkriptionsregulator, ROK-Familie, putative Zucker-Kinase	0,221	0,489	0,150	0,253	3	0,043
cg2936		putativer Transkriptionsregulator, GntR-Familie	0,491	0,630	0,659	0,589	3	0,050
cg2937		putatives ABC-Typ Dipeptide/Oligopeptide/Nickeltransportsystem, sekretierte Komponente	0,139	0,077	0,052	0,083	3	0,008
cg2949		putatives sekretiertes Protein	0,391	0,308	0,157	0,267	3	0,030
cg2951		putatives nucleinsäurebindendes Protein (beinhaltet die HHH Domäne)	2,352	1,226	3,041	2,062	3	0,034
cg2952		putatives sekretiertes Protein	1,415	1,488	2,615	1,766	3	0,026
cg2954	<i>cynT</i>	Carbonican-Hydrazid	0,591	0,590	0,505	0,560	3	0,012
cg2958	<i>butA</i>	L-2,3-Butanediol-Dehydrogenase/Acetoin-Reductase	2,393	2,778	10,348	4,097	3	0,035
cg2959		putatives sekretiertes Protein	2,597	1,403	6,639	2,892	3	0,050
cg2960		hypothetisches Protein	1,241	1,428		1,331	2	0,039
cg2962		putatives Enzym, in Biosynthese der extrazellulären Polysaccharide involviert	2,978	5,589	36,489	8,469	3	0,043
cg2968		hypothetisches Protein, konserviert	1,451	1,110	2,263	1,539	3	0,039
cg2988	<i>ppa</i>	anorganische Pyrophosphatase	0,378	0,399	0,384	0,387	3	0,000
cg2992		putativ sekretiertes Protein	0,444	0,660	0,010	0,494	3	0,047
cg3000		rhodanese-ähnliche Sulfur-Transferase	0,114	0,423	0,145	0,191	3	0,037
cg3011	<i>groEL</i>	Chaperonin	0,475	0,529	0,526	0,510	3	0,003
cg3026	<i>mmpD</i>	Untereinheit 6 der Na ⁺ /K ⁺ /H ⁺ Antiporter Mrp2	0,276	0,400	0,273	0,311	3	0,009
cg3028	<i>mmpF</i>	Untereinheit 6 der Na ⁺ /K ⁺ /H ⁺ Antiporter Mrp2	0,306	0,470	0,449	0,401	3	0,021
cg3029	<i>mmpG</i>	Untereinheit 6 der Na ⁺ /K ⁺ /H ⁺ Antiporter Mrp2	0,557	0,485	0,477	0,505	3	0,006
cg3030		putative Hydrolase oder Acyltransferase (alpha/beta Hydrolase Superfamilie)	0,439	0,595	0,337	0,445	3	0,040
cg3031		hypothetisches Protein, konserviert	0,551	0,535	0,400	0,490	3	0,024
cg3032		putatives sekretiertes Protein	0,441	0,567	0,359	0,448	3	0,028
cg3041		putatives ABC-Typ Multidrugtransportsystem, permease Komponente	0,541	0,440	0,280	0,406	3	0,041
cg3046	<i>pknK</i>	Serine/Threoninprotein-Kinase	1,655	2,129	3,611	2,335	3	0,020
cg3047	<i>ackA</i>	Acetate/Propionat-Kinase	0,203	0,342	0,197	0,239	3	0,011
cg3048	<i>pta</i>	Phosphatidyl-Transferase	0,092	0,121	0,073	0,094	3	0,002
cg3050		putative Acyltransferase	0,286	0,396	0,494	0,382	3	0,024
cg3051		putativ sekretiertes Protein	1,114	1,069		1,091	2	0,012
cg3069		hypothetisches Protein, konserviert	2,345	2,010	4,202	2,705	3	0,015
cg3072		putativ sekretiertes oder Membranprotein		1,130	1,076	1,103	2	0,016
cg3073	<i>sseA1</i>	putative Thioisulfat-Sulfur-Transferase	2,688	3,091	11,329	4,549	3	0,030

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg3077		putatives Membranprotein	1,435	1,539	2,521	1,773	3	0,021
cg3078		hypothetisches Protein	1,727	1,167	2,252	1,656	3	0,028
cg3079	<i>clpB</i>	ATP-abhängige Protease (Hitzeschockprotein)	1,421	1,543	2,248	1,702	3	0,015
cg3091		hypothetisches Protein, konserviert	1,700	2,967	5,370	3,003	3	0,027
cg3094		hypothetisches Protein	1,060	1,111		1,085	2	0,015
cg3099	<i>grpE</i>	molekulares Chaperon (Hitzeschockprotein)	1,388	5,873	4,766	3,387	3	0,040
cg3100	<i>Dank</i>	molekulares Chaperon (Hitzeschockprotein)	1,889	7,332	6,113	4,391	3	0,027
cg3101		putative Permease	1,382	1,764	1,427	1,515	3	0,006
cg3105		hypothetisches Protein	0,962	1,028	0,949	0,979	3	0,004
cg3114	<i>cysN</i>	Sulfatadenyl-Transferase Untereinheit 1	0,081	0,103	0,016	0,051	3	0,022
cg3117		putatives Protein, ferredoxin-ähnlich	0,074	0,192	0,023	0,069	3	0,029
cg3120		hypothetisches Protein, konserviert	1,837	1,681	6,109	2,662	3	0,048
cg3139		hypothetisches Protein, konserviert		2,348	2,598	2,470	2	0,013
cg3140	<i>tagA1</i>	putative DNA-3-Methyladeninglycosylase I	1,260	1,965	4,225	2,187	3	0,049
cg3141	<i>hmp</i>	Flavohemoglobin	30,091	46,763	238,89	69,532	3	0,009
cg3149	<i>alaT</i>	Aminotransferase, Alanin, Glutamat, 2-Aminobutyrat und Aspartat	0,221	0,177	0,133	0,173	3	0,005
cg3157		putativ sekretiertes Protein	3,862	1,210	2,063	2,128	3	0,047
cg3169	<i>pck</i>	Phosphoenolpyruvatcarboxy-Kinase (GTP)	1,648	3,169	2,720	2,422	3	0,014
cg3172	<i>trmB</i>	tRNA (Guanine-N(7))-Methyl-Transferase	1,411	1,193	1,952	1,487	3	0,022
cg3173		hypothetisches Protein, konserviert		1,533	1,808	1,665	2	0,033
cg3179	<i>fadD2</i>	Acyl-CoA-Synthase	0,320	0,453	0,464	0,407	3	0,017
cg3181		putativ sekretiertes Protein	0,378	0,545	0,252	0,373	3	0,042
cg3186	<i>cmt2</i>	Trehalosecorynomycyl-Transferase	0,354	0,280	0,201	0,271	3	0,012
cg3189		Polyprenyl-Transferase	0,178	0,212	0,142	0,175	3	0,003
cg3190		putative membrane-assoziierte Phospholipid-Phosphatase	0,156	0,176	0,109	0,144	3	0,004
cg3192		putativ sekretiertes oder Membranprotein	2,963	4,431	8,709	4,854	3	0,014
cg3193		putative membranassoziierte Phospholipid-Phosphatase	2,268	2,808		2,523	2	0,028
cg3196	<i>glf</i>	UDP-Galactopyranosemutase	0,511	0,489	0,342	0,440	3	0,024
cg3199		putative Hydrolase, HAD-Superfamilie	0,849	0,984	0,901	0,910	3	0,028
cg3200		putative Acyltransferase	1,236	1,212	1,324	1,256	3	0,001
cg3202		Transkriptionsregulator, GntR-Familie	4,281	4,475	10,188	5,801	3	0,009
cg3209		putative metallabhängige Membranprotease	1,051	1,018		1,034	2	0,008
cg3212		putatives Carboxymuconolacton-Decarboxylase Untereinheit	0,262	0,232	0,374	0,283	3	0,010
cg3218		putatives Protein	3,044	10,307	11,033	7,021	3	0,017
cg3219	<i>kdhA</i>	NAD-abhängige L-Lactat-Dehydrogenase	27,774	42,110	89,199	47,076	3	0,003
cg3223		putative NADPH-abhängige FMN-Reduktase	1,517	1,216	2,462	1,656	3	0,033
cg3225		putative Serine/Threonine-spezifische Phosphatase	1,284	1,404	1,832	1,489	3	0,012
cg3227	<i>lldD</i>	quinoneabhängige L-Lactat-Dehydrogenase	1,168	1,387	1,021	1,182	3	0,020
cg3230		putativer Transkriptionsregulator, HTH 3-Familie	0,988	1,593	2,113	1,493	3	0,048
cg3232		putatives sekretierte Phospho-Hydrolase, ICC-Familie	1,711	1,252	2,348	1,713	3	0,024
cg3237	<i>sod</i>	Mangansuperoxid-Dismutase	1,766	1,308	2,369	1,762	3	0,020
cg3247	<i>hrrA</i>	erster Zweikomponenten-Antwort-Regulator der Heme Homöostase	1,097	1,117	1,172	1,128	3	0,001
cg3253	<i>mcbR</i>	Transkriptionsregulator des Sulfatmetabolismus, TetR-Familie	1,305	0,980	1,235	1,165	3	0,021
cg3255	<i>uspA3</i>	universales Stressprotein	2,513	9,349	16,876	7,346	3	0,028
cg3256		putative alkaline Monooxygenase alpha-Kette	1,391	1,823	3,348	2,040	3	0,032
cg3257		hypothetisches Protein	1,516	2,228	5,359	2,626	3	0,041
cg3258	<i>rhuC2</i>	putative Ribosomalspeudouridin-Synthase	1,340	1,026	1,609	1,303	3	0,028
cg3295		putativer Cd2+/Kationtransportierende ATPase	2,482	1,619	3,997	2,523	3	0,022
cg3306	<i>rplI</i>	50S Ribosomalprotein L9	0,171	0,543	0,235	0,280	3	0,050
cg3307	<i>ssb</i>	Einzelstrang-DNA-bindendes Protein	0,223	0,554	0,213	0,297	3	0,046
cg3308	<i>rpsF</i>	30S Ribosomalprotein S6	0,249	0,403	0,257	0,295	3	0,013
cg3319		hypothetisches Protein, konserviert	0,877	1,280	1,278	1,128	3	0,046
cg3323		Myo-inositol-1-phosphat-Synthase	1,300	1,467		1,381	2	0,031
cg3331	<i>ogt</i>	methylierte DNA-Proteincysteinmethyl-Transferase	1,723	2,075	5,066	2,626	3	0,033
cg3332		putative Quinoxid-Reduktase	1,493	1,656	3,652	2,082	3	0,036

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg3335	<i>malE</i>	malic Enzyme	0,510	0,297	0,223	0,323	3	0,035
cg3339	<i>merA</i>	putative FAD-abhängige Pyridinnucleotid-disulphide-Oxidoreductase, ähnlich zur Quecksilberreductase	1,255	1,301	2,098	1,507	3	0,028
cg3343		putatives sekretorisches Membranprotein	1,330	1,815	1,509	1,539	3	0,008
cg3356		putativer Na ⁺ /H ⁺ -Dicarboxylatsymporter	0,191	0,161	0,089	0,140	3	0,009
cg3360	<i>trpG</i>	Anthranylatsynthase Komponente II	0,405	0,539	0,253	0,381	3	0,043
cg3361	<i>trpD</i>	Anthranylatsphosphoryltransferase	0,268	0,550	0,191	0,304	3	0,049
cg3370		putative NADH-abhängige Flavin-Oxidoreductase	2,042	1,069	1,857	1,594	3	0,034
cg3389	<i>oxiC</i>	Myo-Inositol-Dehydrogenase	0,139	0,234	0,053	0,120	3	0,026
cg3390		putativer Myo-Inositolkatabolismus, Zuckerphosphatisomerase/epimerase	0,081	0,208	0,098	0,118	3	0,011
cg3391	<i>ociD</i>	Myo-Inositol-2-Dehydrogenase	0,155	0,342	0,159	0,204	3	0,018
cg3404		putatives sekretiertes siderophore-bindendes Lipoprotein	0,290	0,178	0,068	0,152	3	0,031
cg3410		hypothetisches Protein, konserviert	0,638	0,639		0,639	2	0,000
cg3422	<i>trxB</i>	Thioredoxin-Reductase	0,958	1,249	1,156	1,114	3	0,021
cg3425		hypothetisches Protein, konserviert	1,199	1,164	1,599	1,307	3	0,017
cg3427	<i>parA1</i>	ATPase involved in chromosome partitioning	1,144	1,961	2,640	1,810	3	0,036
cg3428	<i>gidB</i>	glucoseinhibierendes Teilungsprotein B	1,225	2,217	2,438	1,878	3	0,027
cg3430		hypothetisches Protein, konserviert	0,252	0,457	0,113	0,235	3	0,050
cg3432	<i>rpmH</i>	50S Ribosomalprotein L34	0,108	0,242	0,038	0,100	3	0,031

Tabelle 20: Auflistung aller signifikant veränderter Gene aus den Transkriptomexperimenten. Das mRNA-Verhältnis von 60 Minuten anaerob vs. aerob wurde in drei biologisch unabhängigen Replikaten festgestellt. Der Durchschnitt der mRNA-Verhältnisse wurde mit n Replikaten errechnet.

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg0009		putatives Membranprotein	0,711	0,885	0,817	0,801	3	0,037
cg0010		hypothetisches Protein, konserviert	0,817	0,500	0,585	0,620	3	0,041
cg0047		hypothetisches Protein, konserviert	2,826	3,076	2,949	2,949	2	0,012
cg0057	<i>pknB</i>	eukaryotische Serine/Threonin-Kinase	0,364	0,474	0,409	0,413	3	0,004
cg0060	<i>pbbA</i>	D-Alanyl-D-alanincarboxy-Peptidase	0,274	0,445	0,466	0,384	3	0,015
cg0061	<i>rodA</i>	putatives Zellzyklusprotein, FTSW/RODA/SPOVE-Familie	0,355	0,658	0,539	0,501	3	0,032
cg0063		Membranprotein mit N-terminaler Transmembranhelix	0,524	0,683	0,439	0,540	3	0,020
cg0067	<i>gabD3</i>	Succinat-semialdehyd-Dehydrogenase (NADP ⁺)	1,460	1,928	1,718	1,691	3	0,011
cg0077		hypothetisches Protein, VTC-Domäne, konserviert	1,349	1,290	1,319	1,319	2	0,021
cg0080		putativer CoR-ähnlicher Mg ²⁺ -Transporter	1,226	1,098	1,222	1,181	3	0,021
cg0081		putative 4-Oxalocrotonat-Tautomerase	1,737	3,643	2,332	2,453	3	0,026
cg0105		hypothetisches Protein	0,564	0,718	0,768	0,677	3	0,027
cg0107		putatives sekretiertes Protein	0,384	0,249	0,387	0,333	3	0,009
cg0111		hypothetisches Protein	6,496	2,583	17,658	6,666	3	0,038
cg0115	<i>ureC</i>	Urease alpha Untereinheit	0,668	0,859	0,836	0,783	3	0,046
cg0118	<i>ureG</i>	Urease Zusatzprotein		0,801	0,752	0,776	2	0,036
cg0120		putative Esterase/Lipase/Thioesterase Familie	4,503	2,476	4,739	3,752	3	0,012
cg0133		p-Aminobenzo-γ-glutamatttransporter	0,447	0,207	0,403	0,334	3	0,023
cg0134		Metal-abhängige Amidase/Aminoacylase/Carboxy-Peptidase, AbgB-Homolog	0,376	0,579	0,473	0,469	3	0,013
cg0141		putative Glyoxalase/bleomycinresistentes Protein/Dioxygenase	1,976	1,336	1,786	1,677	3	0,024
cg0154		putativer haloacid dehalogenase-ähnliche Hydrolase	1,855	2,481	4,497	2,746	3	0,030
cg0160		hypothetisches Protein	1,122	1,031	1,119	1,090	3	0,042
cg0161		putatives Membranprotein	0,452	0,403	0,490	0,447	3	0,002
cg0162		putatives membrandurchspannendes Protein		0,628	0,672	0,650	2	0,023
cg0165		putativer ABC-2-Typ Transporter		0,759	0,791	0,775	2	0,020
cg0173		hypothetisches Protein, konserviert	0,413	0,085	0,318	0,224	3	0,046
cg0178	<i>hrpB</i>	mögliche ATP-abhängige RNA-Helikase	1,879	2,396	1,402	1,848	3	0,029
cg0179		putatives Membranprotein	1,271	1,877	2,380	1,784	3	0,043
cg0184		hypothetisches Protein, konserviert	1,298	1,133	1,129	1,184	3	0,032
cg0188		hypothetisches Protein, konserviert	0,639	0,800	0,783	0,737	3	0,025
cg0193	<i>pepO</i>	Endopeptidase O	1,237	2,397	1,978	1,803	3	0,047
cg0194		putatives sekretiertes Protein	1,689	1,942	3,330	2,219	3	0,031
cg0195		putatives Membranprotein	1,726	1,868	2,230	1,930	3	0,006
cg0203	<i>iolE</i>	2-Keto-myo-inositol-Dehydrogenase	0,339	0,288	0,715	0,412	3	0,044
cg0205	<i>iolH</i>	Myo-inositolkatabolismusprotein	0,311	0,267	0,666	0,381	3	0,038
cg0235	<i>emb</i>	Arabinosyl-Transferase	0,518	0,745	0,376	0,526	3	0,041
cg0239		hypothetisches Protein	2,406	1,749	2,567	2,211	3	0,011
cg0240		putatives Membranprotein	1,369	3,259	3,130	2,408	3	0,045
cg0241		hypothetisches Protein, konserviert	2,441	3,067	3,090	2,849	3	0,003
cg0242		hypothetisches Protein	3,080	3,389	4,595	3,634	3	0,004
cg0243		putatives Membranprotein	1,855	2,128	3,099	2,304	3	0,016
cg0249		putatives Polysaccharid/Polylipophosphatexportsystem, Permeasekomponente	0,435	0,685	0,407	0,495	3	0,025
cg0257	<i>moeB</i>	Molybdopterin-Cofaktor-Synthase, Untereinheit 3	2,234	2,414	4,106	2,808	3	0,016
cg0260	<i>moeC</i>	Molybdopterin-Cofaktor-Biosynthese C	1,379	2,259	2,626	2,015	3	0,034
cg0277	<i>dcxT</i>	Dicarboxylataufnahmesystem (Succinat, Fumarat oder L-Malat), DASS-Familie		0,291	0,255	0,272	2	0,016
cg0286		putatives Membranprotein, konserviert	0,202	0,285	0,169	0,214	3	0,005
cg0294	<i>aspT</i>	Aspartatamino-Transferase, AT Klasse I	1,941	1,880	1,292	1,677	3	0,029
cg0295		hypothetisches Protein, konserviert	2,274	2,682	1,337	2,013	3	0,040
cg0298	<i>recR</i>	Rekombinationsprotein	0,432	0,489	0,615	0,506	3	0,011
cg0299	<i>cobQ</i>	Cobrylsäure-Synthase	0,780	0,781	0,640	0,731	3	0,021
cg0303	<i>leuA</i>	2-Isopropylmalat-Synthase	0,262	0,123	0,288	0,210	3	0,014

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg0316		putatives sekretiertes Protein		1,662	2,012	1,828	2	0,050
cg0323		konserviertes hypothetisches sekretorisches Protein	0,915	0,906	0,797	0,871	3	0,044
cg0324	<i>mnhD</i>	NADH-Dehydrogenase Untereinheit N	0,519	0,766	0,382	0,533	3	0,045
cg0326	<i>nuoL</i>	NADH-Quinoxinoreductase Kette 5	0,497	0,646	0,263	0,439	3	0,045
cg0330	<i>cgtR1</i>	Zwei-Komponenten-Antwortregulator	1,144	1,562	1,307	1,327	3	0,044
cg0336	<i>ponA</i>	Penicillin-bindendes Protein 1B	0,506	0,504	0,541	0,517	3	0,000
cg0355		putative NTP Pyrophospho-Hydrolase	1,148	1,571	1,425	1,369	3	0,038
cg0358		putative Hydrolase oder Acyltransferase	1,106	1,461	1,404	1,314	3	0,043
cg0364		putatives Membranprotein	1,434	1,199	1,623	1,408	3	0,030
cg0384	<i>ruIC1</i>	ribosomale große Untereinheit Pseudouridinsynthase C		0,540	0,600	0,569	2	0,029
cg0387	<i>adhE</i>	Zink-Typ Alkohol-Dehydrogenasetransmembranprotein	1,339	1,349	2,092	1,557	3	0,047
cg0388		putative Zn-abhängige Hydrolase	1,782	2,122	1,281	1,692	3	0,035
cg0391	<i>rmlB2</i>	putative dTDP-Glucose 4,6-dehydrogenase	0,539	0,447	0,408	0,461	3	0,005
cg0393		putatives Membranprotein, konserviert	0,692	0,571	0,766	0,671	3	0,022
cg0394		putative Glycosyltransferase	0,332	0,701	0,272	0,398	3	0,043
cg0399		hypothetisches Protein	1,278	1,371	1,711	1,442	3	0,026
cg0400	<i>adhC</i>	Alkohol-Dehydrogenase, Klasse C	1,551	2,317	1,789	1,860	3	0,017
cg0401	<i>rmlA1</i>	TDP-Glucosepyro-Phosphorylase	0,828	0,671	0,675	0,721	3	0,021
cg0403	<i>rmlB1</i>	dTDP-Glucose 4,6-Dehydrogenase	0,709	0,648	0,643	0,666	3	0,003
cg0412		putatives Membranprotein	0,762	0,687	0,548	0,659	3	0,025
cg0413	<i>cmT1</i>	Trehalosecorynomycyl-Transferase	0,324	0,682	0,331	0,418	3	0,035
cg0415	<i>ptpA2</i>	putative Protein-Tyrosin-Phosphatase	0,405	0,470	0,401	0,424	3	0,002
cg0416		putativ sekretiertes Protein, beinhaltet eine eukaryotische Domäne	0,147	0,369	0,356	0,268	3	0,024
cg0419		putative Glycosyl-Transferase		0,284	0,267	0,276	2	0,006
cg0432		putative Acyltransferase	0,596	0,624	0,575	0,598	3	0,001
cg0436		hypothetisches Protein	0,403	0,584	0,628	0,528	3	0,022
cg0438		putative Glycosyl-Transferase	0,519	0,344	0,250	0,355	3	0,020
cg0439		putative Acetyl-Transferase	1,206	1,112	1,285	1,199	3	0,024
cg0441	<i>lpd</i>	Dihydrolipoamid-Dehydrogenase	2,338	2,221	1,300	1,890	3	0,038
cg0443		putativer Transkriptionsregulator	0,442	0,768	0,487	0,549	3	0,036
cg0444	<i>ramB</i>	Transkriptionsregulator, involviert im Acetatmetabolismus, MerR-Familie	0,076	0,114	0,254	0,130	3	0,014
cg0446	<i>sdhA</i>	Succinat:Menachinon-Oxidoreductase, Flavoprotein Untereinheit	0,352	0,073	0,077	0,126	3	0,028
cg0447	<i>sdhB</i>	Succinat:Menachinon-Oxidoreductase, Eisen-Schwefel Protein Untereinheit	0,279	0,121	0,130	0,164	3	0,011
cg0448		putatives Membranprotein, konserviert	0,335	0,139	0,121	0,178	3	0,016
cg0451		putatives Membranprotein		1,180	1,155	1,168	2	0,009
cg0452		hypothetisches Protein	1,457	1,888	2,090	1,792	3	0,016
cg0455		putative Permease, Hauptfacilitator Superfamilie	0,252	0,381	0,588	0,384	3	0,030
cg0457	<i>purU</i>	Formyltetrahydrofolat-Deformylase	0,243	0,586	0,484	0,410	3	0,040
cg0463		Transkriptionaler Repressor während Kupferlimitierung	1,515	2,556	4,271	2,548	3	0,044
cg0464	<i>ctpA</i>	Kupfer-transportierende ATPase	2,173	3,608	5,594	3,527	3	0,022
cg0472		hypothetisches Protein, konserviert	0,409	0,348	0,667	0,456	3	0,028
cg0479		hypothetisches Protein	1,574	1,650	2,574	1,884	3	0,028
cg0480	<i>fadD5</i>	Acyl-CoA-Synthase	1,482	4,568	4,640	3,155	3	0,047
cg0482	<i>gpmA</i>	Phosphoglycerol-Mutase	1,456	3,885	2,846	2,525	3	0,043
cg0483	<i>cgtS4</i>	Zweikomponenten-Sensor-Kinase	1,646	3,066	2,013	2,166	3	0,026
cg0484	<i>cgtR4</i>	Zweikomponenten-Antwort-Regulator	2,199	3,368	1,397	2,179	3	0,046
cg0492		putatives DNA-bindendes Protein, konserviert		0,643	0,618	0,631	2	0,010
cg0493		hypothetisches Protein		0,163	0,181	0,172	2	0,009
cg0497	<i>hemA</i>	Glutamylyl-tRNA-Reductase	0,750	0,766	0,552	0,682	3	0,034
cg0498	<i>hemC</i>	Porphobilinogen-Deaminase	0,799	0,713	0,655	0,720	3	0,014
cg0504		NAD-abhängiges Quinatz-Dehydrogenase	0,899	0,783	0,826	0,835	3	0,022

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg0507		putativer ABC-Typ Supermidin/Putrescin/Eisen-Transporter, Permease Untereinheit	0,204	0,304	0,287	0,261	3	0,004
cg0508		putativer ABC-Typ Supermidin/Putrescin/Eisen-Transporter, substratbindendes Lipoprotein	0,121	0,327	0,241	0,212	3	0,017
cg0510	<i>hemD</i>	Uroporphyrinogen III Synthase/Methyl-Transferase	0,267	0,482	0,369	0,362	3	0,014
cg0511		hypothetisches Protein	0,769	0,709	0,553	0,671	3	0,028
cg0512	<i>hemB</i>	Delta-aminolevulinäure-Dehydratase, in Heme-Biosynthese involviert	1,812	1,905	1,732	1,815	3	0,001
cg0518	<i>hemL</i>	Glutamat-1-semialdehyd-2,1-aminomutase	0,700	0,669	0,440	0,590	3	0,035
cg0527	<i>glyR</i>	Transkriptionsregulator von <i>glyA</i> , ArsR-Familie	2,271	2,842	2,540	2	0,038	
cg0528		putativ sekretiertes Protein	4,030	4,307	6,886	4,926	3	0,005
cg0530		hypothetisches Protein	2,120	1,910	2,012	2	0,023	
cg0537		putativer Transkriptionsregulator, LysR-Familie	1,174	1,250	1,211	2	0,048	
cg0540		putative Dicarbonsäure-Hydrolase	0,455	0,652	0,779	0,614	3	0,046
cg0543		hypothetisches Protein	0,320	0,386	0,458	0,384	3	0,006
cg0545	<i>pitA</i>	hypothetisches Protein	0,487	0,643	0,664	0,592	3	0,017
cg0549		putative Pterin-4-alpha-carbinolamin-Dehydratase	1,556	1,552	2,778	1,886	3	0,041
cg0552	<i>menD</i>	2-Oxoglutarat-Decarboxylase	0,600	0,538	0,568	2	0,030	
cg0553		putatives Membranprotein, konserviert	0,658	0,636	0,647	2	0,008	
cg0559	<i>ispB</i>	putatives Octaprenyl-diphosphat-Synthaseprotein	0,393	0,514	0,396	0,431	3	0,005
cg0561	<i>secE</i>	Translocase Untereinheit	1,293	1,286	1,289	2	0,000	
cg0562	<i>nusG</i>	Transkriptionsantiterminator	1,266	1,266	1,266	2	0,000	
cg0563	<i>rplK</i>	50S Ribosomalprotein L11	0,348	0,275	0,070	0,188	3	0,040
cg0569		putative Kationtransport ATPase	7,049	6,358	6,695	2	0,008	
cg0571		hypothetisches Protein	1,891	1,464	2,691	1,953	3	0,031
cg0572	<i>rplU</i>	50S Ribosomalprotein L10	0,563	0,173	0,150	0,244	3	0,039
cg0573	<i>rplL</i>	50S Ribosomalprotein L7/L12	0,278	0,205	0,075	0,162	3	0,022
cg0575		putatives sekretiertes Protein	1,487	1,735	2,702	1,910	3	0,034
cg0582	<i>rpsG</i>	30S Ribosomalprotein S7	0,464	0,371	0,125	0,278	3	0,044
cg0590		putativer siderophore ABC-Transporter, Permease	0,698	0,795	0,758	0,749	3	0,008
cg0593	<i>rpsJ</i>	30S Ribosomalprotein S10	0,467	0,208	0,065	0,185	3	0,049
cg0596	<i>rplD</i>	50S Ribosomalprotein L4	0,321	0,361	0,082	0,212	3	0,041
cg0597	<i>rplW</i>	50S Ribosomalprotein L23	0,265	0,321	0,052	0,164	3	0,044
cg0599	<i>rpsS</i>	30S Ribosomalprotein S19	0,241	0,263	0,133	0,204	3	0,009
cg0600	<i>rplV</i>	50S Ribosomalprotein L22	0,381	0,330	0,125	0,251	3	0,029
cg0602	<i>rplP</i>	50S Ribosomalprotein L16	0,265	0,394	0,066	0,190	3	0,046
cg0603	<i>rplC</i>	50S Ribosomalprotein L29	0,225	0,397	0,121	0,221	3	0,024
cg0607		putatives sekretiertes Protein	1,172	1,147	1,287	1,200	3	0,017
cg0609	<i>rplX</i>	50S Ribosomalprotein L24	0,355	0,236	0,064	0,175	3	0,039
cg0610	<i>rplE</i>	50S Ribosomalprotein L5	0,457	0,218	0,065	0,186	3	0,049
cg0611		putatives sekretiertes Protein	0,751	0,850	0,600	0,726	3	0,044
cg0612	<i>dkg</i>	2,5-Diketo-D-glucosäure-Reductase	3,202	2,284	3,431	2,928	3	0,007
cg0617		putativer Molybdopterin-guanidinucleotidbiosynthese	0,690	0,772	0,841	0,765	3	0,021
cg0618	<i>fdhF</i>	Format-Dehydrogenase-Oxidoreductase	1,270	1,380	1,091	1,241	3	0,043
cg0620		putatives sekretiertes Protein	0,183	0,225	0,203	2	0,020	
cg0621		putativer Cobalamin-ECT-Transporter, Substrat-spezifische Komponente	0,622	0,450	0,409	0,485	3	0,015
cg0622		putativer Cobalamin-ECT-Transporter, verdoppelte ATPase Komponente	0,449	0,188	0,139	0,227	3	0,026
cg0623		putativer Cobalamin-ECT-Transporter, Transmembrankomponente	0,255	0,223	0,198	0,224	3	0,001
cg0624		putative sekretierte Oxidoreductase	0,335	0,484	0,141	0,284	3	0,038
cg0625		putatives sekretiertes Protein	0,146	0,037	0,071	0,072	3	0,011
cg0631	<i>rpsE</i>	30S Ribosomalprotein S5	0,209	0,348	0,050	0,154	3	0,042
cg0632	<i>rpmD</i>	50S Ribosomalprotein L30	0,312	0,220	0,045	0,145	3	0,042
cg0651	<i>infA</i>	Translationsinitiationsfaktor IF-1	0,414	0,620	0,216	0,381	3	0,044
cg0652	<i>rpsM</i>	30S Ribosomalprotein S13	0,661	0,394	0,211	0,381	3	0,050
cg0658	<i>rptA</i>	terminale Rhamnopyranosyl-Transferase	0,729	0,752	0,741	2	0,010	

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg0662		putative FAD/FMN-beinhaltende Dehydrogenase		1,730	1,536	1,630	2	0,038
cg0668		putatives Membranprotein, Segregations ATPase, FtsK/SpolIIE Familie		1,875	1,674	1,772	2	0,031
cg0673	<i>rplM</i>	50S Ribosomalprotein L13	0,421	0,192	0,097	0,199	3	0,031
cg0674	<i>prpS</i>	30S Ribosomalprotein S9	0,136	0,206	0,099	0,141	3	0,006
cg0680		hypothetisches Protein, konserviert	1,540	1,499	1,632	1,556	3	0,001
cg0683		putative Permease	4,392	9,880	5,938	6,363	3	0,008
cg0684	<i>papA</i>	Prolylamino-Peptidase A	1,988	3,004	3,201	2,701	3	0,012
cg0685		homolog zu metallabhängiger Protease, putative molekulares Chaperon	1,951	2,214	2,021	2,059	3	0,001
cg0686		Acetyl-Transferase, GNAT-Familie	1,760	2,424	1,841	1,988	3	0,010
cg0690	<i>groES</i>	Chaperonin 10 Kd Untereinheit	0,634	0,461	0,261	0,424	3	0,040
cg0697		hypothetisches Protein, konserviert		1,705	1,596	1,650	2	0,019
cg0699	<i>guaB2</i>	Inositol-5-monophosphat-Dehydrogenase	0,648	0,371	0,311	0,422	3	0,030
cg0701		putativer Metabolittransporter, DMT Superfamilie	1,134	1,206	1,313	1,216	3	0,021
cg0704		hypothetisches Protein, konserviert	3,298	3,812	4,623	3,873	3	0,003
cg0705		hypothetisches Protein	1,189	1,517	1,876	1,501	3	0,045
cg0711		putatives Membranprotein	0,626	0,510	0,760	0,624	3	0,027
cg0712		putatives sekretiertes Protein	0,337	0,321	0,400	0,351	3	0,002
cg0715		putatives sekretiertes Protein	0,480	0,302	0,371	0,377	3	0,009
cg0726		putatives sekretiertes Lipoprotein	2,258	2,026	2,398	2,222	3	0,002
cg0728	<i>phr</i>	Deoxyribodipyrimidin-Photolyase	0,566	0,283	0,478	0,424	3	0,027
cg0730		Glycosyl-Transferase	0,876	0,747	0,834	0,817	3	0,024
cg0735		putativer ABC-Transporter, Permeaseuntereinheit	0,232	0,528	0,281	0,325	3	0,023
cg0736		putativer ABC-Transporter, ATPase-Komponente	0,296	0,535	0,227	0,330	3	0,024
cg0737		putativer ABC-Transporter, sekretiertes Lipoprotein	0,538	0,290	0,205	0,318	3	0,028
cg0739		putatives integrales Membranprotein	1,496	1,852	1,542	1,622	3	0,009
cg0740		putatives Membranprotein	1,374	1,620	1,404	1,462	3	0,009
cg0741	<i>sirR</i>	Eisenrepressorprotein, DtxR-Familie	1,334	1,069	1,316	1,234	3	0,049
cg0747		putative Cytidine- und Deoxycytidylat-Deaminase		0,974	0,959	0,966	2	0,034
cg0752		putatives sekretiertes oder Membranprotein		0,616	0,538	0,576	2	0,039
cg0754	<i>metA</i>	Homoserine-O-acetyl-Transferase	0,464	0,743	0,364	0,500	3	0,040
cg0767		putatives cytoplasmisches Siderophore-interagierendes Protein	0,919	0,840	0,811	0,855	3	0,026
cg0772		putative Zuckerefflux-Permease		0,701	0,698	0,700	2	0,000
cg0773		putative Exodeoxyribo-Nuclease	0,489	0,294	0,275	0,341	3	0,014
cg0774		putatives Membranprotein		0,627	0,612	0,620	2	0,002
cg0780		putatives Membranprotein, Ribonuclease BN-ähnliche Familie		2,951	3,183	3,065	2	0,010
cg0781		putatives Membranprotein	2,460	2,254	4,691	2,963	3	0,021
cg0782	<i>dac</i>	D-Alanyl-D-alanin-Carboxypeptidase	1,202	1,178	1,125	1,168	3	0,006
cg0783		hypothetisches Protein, konserviert	0,325	0,254	0,225	0,265	3	0,003
cg0786	<i>upp</i>	Uracilphosphoribosyl-Transferase	0,476	0,349	0,325	0,378	3	0,007
cg0787		putativer Transkriptionsregulator, HTH 3-Familie	0,580	0,474	0,453	0,499	3	0,006
cg0790	<i>lpdA</i>	Dihydrolipoamid-Dehydrogenase	0,605	0,640	0,738	0,659	3	0,009
cg0791	<i>pyc</i>	Pyruvatcarboxylase	0,262	0,122	0,153	0,170	3	0,008
cg0799		hypothetisches Protein, konserviert	0,577	0,463	0,687	0,569	3	0,019
cg0800		Transkriptionsaktivator des Propionatcatabolismus, MerR/HTH 3-Familie	0,418	0,319	0,533	0,414	3	0,014
cg0803	<i>thtR</i>	Thiosulfatsulfur-Transferase	1,264	2,595	1,930	1,850	3	0,049
cg0807		hypothetisches Protein, konserviert	3,167	2,036	3,488	2,823	3	0,012
cg0809	<i>maf</i>	putatives Maf-ähnliches Protein	0,400	0,505	0,293	0,390	3	0,013
cg0814	<i>birA</i>	Biotin-Ligase	0,571	0,743	0,569	0,623	3	0,016
cg0831	<i>tusG</i>	Trehaloseaufnahme-system, ABC-Typ, Permease	0,394	0,205	0,532	0,350	3	0,033
cg0832	<i>tusF</i>	Trehaloseaufnahme-system, ABC-Typ, membrandurchspannendes Protein	0,316	0,248	0,457	0,330	3	0,012
cg0833		putatives Membranprotein, involviert im Trehaloseaufnahme-system, konserviert	0,389	0,486	0,431	0,433	3	0,003

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg0837		hypothetisches Protein	1,470	1,123	1,550	1,368	3	0,044
cg0840		hypothetisches Protein, konserviert	1,738	2,286	3,547	2,415	3	0,026
cg0842		putative DNA-Helicase	0,535	0,637	0,331	0,483	3	0,033
cg0843		putative Helicase	0,404	0,625	0,398	0,465	3	0,018
cg0844		putatives Typ II Restriktionsenzym, Methylaseuntereinheit	0,655	0,618	0,373	0,533	3	0,036
cg0845		putative Superfamilie II DNA/RNA-Helicase, SNF2-Familie	0,507	0,688	0,369	0,505	3	0,031
cg0848	<i>wbbL</i>	putative Rhamnosyltransferase	0,619	0,396	0,357	0,444	3	0,020
cg0859		hypothetisches Protein, konserviert	1,426	3,629	2,082	2,209	3	0,050
cg0868	<i>secA</i>	Preprotein Translocase, Untereinheit	0,386	0,578	0,396	0,446	3	0,013
cg0870		putative Haloacid-Dehalogenase/Epoxidhydrolase Familie	0,628	0,664	0,819	0,699	3	0,024
cg0876	<i>sigH</i>	RNA-Polymerase sigma-70 Faktor, ECF-Familie	0,701	0,531	0,436	0,545	3	0,024
cg0877		putativer Anti-sigma Faktor	0,770	0,538	0,651	0,646	3	0,026
cg0878	<i>whcE</i>	Transkriptionsregulator, WhiB-Homolog	0,690	0,494	0,452	0,536	3	0,020
cg0881	<i>rhlE</i>	mögliche ATP-abhängige RNA-Helicase	1,225	1,696	1,714	1,527	3	0,030
cg0894		putatives sekretiertes Protein	0,919	0,847	0,843	0,869	3	0,017
cg0898	<i>pdxS</i>	Pyridoxal-5'-Phosphat-PLP Synthase Untereinheit	0,367	0,088	0,071	0,132	3	0,030
cg0899	<i>pdxT</i>	Pyridoxal-5'-Phosphat-PLP Synthase Untereinheit, Glutamin-Amino-Transferase	0,407	0,069	0,115	0,148	3	0,034
cg0901		putatives sekretiertes Protein	0,295	0,358	0,325	0,325	2	0,027
cg0910		L-histidinol-phosphat-Phosphatase	1,277	1,205	1,125	1,201	3	0,018
cg0915	<i>ftsX</i>	putatives Zellteilungsprotein, FtsX-Familie	0,424	0,359	0,295	0,356	3	0,005
cg0919	<i>tnp18a</i>	Transposase	1,838	1,720	3,876	2,306	3	0,042
cg0923		putatives Membranprotein	0,681	0,710	0,710	0,696	2	0,014
cg0924		putativer ABC-Typ Eisen-Siderophor-Transporter, substratbindendes Lipoprotein	0,217	0,071	0,229	0,153	3	0,019
cg0927		putativer ABC-Typ Eisen-Siderophor-Transporter, Permeaseuntereinheit	0,313	0,376	0,259	0,312	3	0,004
cg0934		hypothetisches Protein, konserviert	1,091	1,400	1,446	1,302	3	0,048
cg0949	<i>glfA</i>	Citrat-Synthase	0,439	0,595	0,397	0,470	3	0,012
cg0951	<i>accDA</i>	Acetyl-CoA-carboxylase-carboxyl-Transferase	0,890	0,934	0,919	0,914	3	0,008
cg0952		putatives Integralmembranprotein	0,250	0,300	0,110	0,202	3	0,018
cg0953	<i>mctC</i>	Monocarboxylsäuretransporter	0,486	0,166	0,179	0,244	3	0,028
cg0957	<i>rpf-IB</i>	Fettsäuresynthase, Fas-I-Typ, nicht essenziell	0,482	0,480	0,251	0,387	3	0,024
cg0966	<i>thyA</i>	Thymidylat-Synthase	1,566	1,561	1,509	1,545	3	0,000
cg0967	<i>cysQ</i>	3'-Phosphoadenosin-5'-phosphosulfate (PAPS) 3'-Phosphatase	2,800	3,945	2,552	3,043	3	0,007
cg0972		putative Cyanatpermease, MFS-Typ	1,323	1,396	1,359	1,359	2	0,024
cg0973	<i>pgi</i>	Glucose-6-phosphat-Isomerase	1,937	3,470	2,371	2,516	3	0,016
cg0979		putativer Transkriptionsregulator, PadR-ähnlich	0,569	0,627	0,469	0,551	3	0,010
cg0986	<i>amtR</i>	Masterregulator der Stickstoffkontrolle, TetR-Familie	0,555	0,582	0,407	0,509	3	0,013
cg0990	<i>rpmG</i>	50S Ribosomalprotein L33	0,402	0,329	0,093	0,231	3	0,043
cg0991	<i>rpmB</i>	50S Ribosomalprotein L28	0,371	0,239	0,153	0,238	3	0,015
cg0994	<i>rpmE</i>	50S Ribosomalprotein L31	0,255	0,224	0,108	0,183	3	0,012
cg0995	<i>rpmF</i>	50S Ribosomalprotein L32	0,286	0,498	0,156	0,281	3	0,032
cg1001	<i>mscL</i>	großer leitfähiger mechanosensitiver Kanal, MscL-Familie	0,261	0,258	0,468	0,316	3	0,014
cg1002		putatives sekretorisches Protein, konserviert	3,266	2,541	3,331	3,024	3	0,003
cg1003		5-Formyltetrahydrofolat-cyclo-Ligase	1,944	2,974	3,355	2,686	3	0,013
cg1006		putative Acetyl-Transferase	1,104	1,129	1,119	1,117	2	0,016
cg1009		putativer integraler Membrantransporter, MFS-Typ	0,561	0,459	0,508	0,508	2	0,047
cg1014	<i>pmt</i>	Glycosyl-Transferase	0,335	0,328	0,434	0,363	3	0,004
cg1017	<i>metS</i>	Methionyl-tRNA-Synthetase	0,423	0,553	0,439	0,468	3	0,006
cg1037	<i>rpf2</i>	Faktor zur Wiederbelebung	0,629	0,670	0,422	0,562	3	0,029
cg1041	<i>pdxK</i>	Pyridoxal/Pyridoxine/Pyridoxamin-Kinase	1,437	1,555	1,418	1,469	3	0,002
cg1044		hypothetisches Protein, konserviert	3,014	1,548	3,140	2,447	3	0,030
cg1045		hypothetisches Protein, konserviert	2,419	2,912	4,293	3,116	3	0,011
cg1052	<i>cmt3</i>	Corynomycyltransferase	0,288	0,254	0,319	0,286	3	0,001
cg1053		Transkriptionsregulator, TetR-Familie	0,417	0,143	0,201	0,229	3	0,022
cg1055	<i>menG</i>	Ribonucleaseaktivitäts Regulatorprotein	0,703	0,443	0,641	0,585	3	0,031

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg1060	<i>prfC</i>	putativer Peptidkettenentlassungsfaktor 3 EF-G	0,555	0,588	0,472	0,536	3	0,005
cg1067	<i>pth2</i>	Peptidyl-tRNA-Hydrolase	0,335	0,574	0,668	0,504	3	0,041
cg1068		putative Oxido-Reductase	2,095	1,692	4,886	2,587	3	0,049
cg1072	<i>rplY</i>	50S Ribosomalprotein L25	0,156	0,178	0,132	0,154	3	0,001
cg1074		hypothetisches Protein, konserviert	0,626	0,462	0,374	0,476	3	0,019
cg1075	<i>prsA</i>	Ribose-phosphatpyrophospho-Kinase	0,489	0,748	0,339	0,499	3	0,047
cg1076	<i>glmU</i>	putativer UDP-N-Acetylglucosamin-Propyrophosphorylase	0,123	0,203	0,113	0,141	3	0,004
cg1080		putative Multikupfer-Oxidase	2,981	9,326	7,589	5,953	3	0,018
cg1081		putatives ABC-Typ Multidrugtransportsystem, ATPase-Komponente	3,847	5,950	6,660	5,342	3	0,005
cg1082		putatives Membranprotein	4,144	4,894	3,705	4,220	3	0,002
cg1083	<i>cgtS10</i>	Zweikomponenten-Sensor-Kinase	3,338	2,904	2,241	2,791	3	0,006
cg1084	<i>cgtR10</i>	Zweikomponenten-Antwort-Regulator	3,255	2,486	5,545	3,553	3	0,016
cg1091		hypothetisches Protein	0,612	0,471	0,358	0,469	3	0,020
cg1096		hypothetisches Protein	0,624	0,569	0,595	0,595	2	0,027
cg1097		hypothetisches Protein	1,266	1,251	1,258	1,258	2	0,000
cg1103		putatives Membranprotein	1,450	1,185	1,473	1,363	3	0,023
cg1108	<i>porC</i>	putatives sekretiertes Protein	0,613	0,369	0,424	0,458	3	0,018
cg1109	<i>porB</i>	Anion-spezifischer Porinvorläufer	0,387	0,393	0,524	0,430	3	0,007
cg1111	<i>eno</i>	Enolase, Phosphopyruvat-Hydratase	2,325	5,539	4,512	3,873	3	0,018
cg1112		putativer Septumformationsinitiator, sekretiertes Protein, FtsB-Familie		1,369	1,374	1,371	2	0,000
cg1113		hypothetisches Protein, konserviert	1,657	1,587	1,532	1,591	3	0,001
cg1123	<i>greA</i>	Transcriptionselongationsfaktor	0,504	0,501	0,179	0,356	3	0,048
cg1129	<i>aroF</i>	3-Eoxy-7-phosphoheptulonat-Synthase	0,204	0,391	0,210	0,256	3	0,012
cg1136		hypothetisches Protein, konserviert	1,838	1,701	1,675	1,737	3	0,001
cg1138		putative Phosphinothricin-acetyl-Transferase	0,482	0,606	0,480	0,519	3	0,007
cg1139		putative allophanate Hydrolase Untereinheit 2	0,168	0,168	0,264	0,195	3	0,004
cg1140		putative allophanate Hydrolase Untereinheit 1	0,200	0,144	0,272	0,199	3	0,006
cg1141		putatives Protein, UPF0721-Familie, konserviert	0,155	0,175	0,265	0,193	3	0,005
cg1142		putativer Na+/Prolin, Na+/Pantheothent-Symporter	0,373	0,387	0,195	0,304	3	0,017
cg1157	<i>fbp</i>	Fructose-1,6-Bisphosphatase, Klasse II, essentiell für Gluconeogenese	1,409	2,540	2,797	2,155	3	0,035
cg1166		putatives Membranprotein	1,975	2,041	2,007	2,007	2	0,004
cg1167		putatives Acetyl-Transferase, GNAT-Familie	0,461	0,436	0,449	0,449	2	0,009
cg1169		Na+-Methionin-Symporter, SNF Familie	0,326	0,371	0,348	0,348	2	0,019
cg1179		putative Sensorbox, GDFEF-Familie	3,502	3,124	3,308	3,308	2	0,015
cg1180		putative Glycosyl-Transferase, möglicherweise in Zellwandbiogenese involviert	3,064	2,691	2,872	2,872	2	0,019
cg1182		putatives Membranprotein	2,498	2,576	2,537	2,537	2	0,003
cg1183		putatives Dinucleotide-benutzendes Enzyme	2,468	2,937	2,692	2,692	2	0,027
cg1187	<i>tnp10a</i>	Transposasefragment	1,469	1,333	2,014	1,580	3	0,033
cg1190		hypothetisches Protein	2,094	2,358	2,222	2,222	2	0,023
cg1202		hypothetisches Protein, konserviert	1,693	2,115	3,049	2,218	3	0,022
cg1203		putative Mg-Chelatase Untereinheit ChlI	1,516	2,051	1,506	1,673	3	0,018
cg1206		putative PEP-Phosphonumatase oder ähnliches Enzyme, konserviert		3,530	4,685	4,067	2	0,032
cg1207		putative ATPase-Komponente des ABC-Transporters mit duplizierter ATPase-Domäne		1,968	2,009	1,988	2	0,001
cg1208		hypothetisches Protein, konserviert	2,002	1,303	2,390	1,841	3	0,038
cg1226	<i>pobB</i>	4-Hydroxybenzoat-3-Monooxygenase	0,331	0,262	0,373	0,319	3	0,004
cg1232		hypothetisches Protein, LmbE-, Familie, konserviert	1,312	1,213	1,339	1,287	3	0,006
cg1236	<i>tpx</i>	Thiolperoxidase	3,324	4,158	4,523	3,969	3	0,002
cg1237		putatives Membranprotein	0,662	0,686	0,467	0,665	3	0,000
cg1243		putative sekretierte trypsin-ähnliche Serin-Protease, beinhaltet C-terminale PDZ-Domäne	0,831	0,736	0,690	0,750	3	0,017
cg1244	<i>arsC4</i>	Arsenat-Reductase, Glutaredoxin-Familie	0,495	0,433	0,370	0,430	3	0,005
cg1245		putatives Membranprotein		0,300	0,375	0,335	2	0,032

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg1247		putatives sekretorisches Protein	0,551	0,694	0,742	0,657	3	0,022
cg1248		putative GTPase involviert in der Stressantwort	0,244	0,205	0,180	0,208	3	0,002
cg1252	<i>fdxC</i>	Ferredoxin Nr. 3	0,630	0,317	0,644	0,505	3	0,050
cg1256	<i>dapD</i>	Tetrahydrodipicolinat-Succinylase	0,782	0,848	0,743	0,790	3	0,012
cg1259	<i>dapD2</i>	putative Tetrahydrodipicolinat-N-succinyltransferase	2,832	2,042	1,355	1,986	3	0,042
cg1260	<i>dapE</i>	Succinyl-diaminopimelat-Desuccinylase	1,348	1,448	1,397	1,397	2	0,032
cg1261		Lysindicarboxylaseprotein	1,250	1,338	1,293	1,293	2	0,039
cg1265		hypothetisches Protein, konserviert	3,049	2,595	2,813	2,813	2	0,024
cg1266	<i>rrmA</i>	rRNA-Guanine-N1-methyl-Transferase	1,507	1,542	1,155	1,390	3	0,035
cg1268	<i>glgA</i>	Glycogen-Synthase	1,475	1,371	1,381	1,408	3	0,002
cg1277		putatives Membranprotein, konserviert	1,490	1,529	1,462	1,493	3	0,000
cg1278		putatives sekretiertes Protein, konserviert	1,157	1,137	1,147	1,147	2	0,005
cg1279		putatives sekretorisches Protein	2,933	4,753	9,815	5,153	3	0,021
cg1282		hypothetisches Protein, konserviert	1,274	1,547	1,778	1,519	3	0,024
cg1283	<i>aroE</i>	Shikimat-5-Dehydrogenase	1,457	1,940	1,556	1,639	3	0,014
cg1284	<i>lipT</i>	Typ B Carboxylesterase	2,476	3,536	3,417	3,104	3	0,005
cg1285		hypothetisches Protein, konserviert	3,909	3,031	2,115	2,927	3	0,013
cg1286		hypothetisches Protein, konserviert	2,836	2,112	1,866	2,236	3	0,011
cg1287		hypothetisches Protein, konserviert	1,251	1,974	1,830	1,653	3	0,035
cg1290	<i>metE</i>	5-Methyltetrahydropteroyltrimethylglutamat-homocysteinmethyl-Transferase	0,453	0,476	0,242	0,374	3	0,023
cg1291		putatives Membranprotein	6,280	5,152	5,688	5,688	2	0,018
cg1295		putative Hydrolase oder Acyltransferase (alpha/beta Hydrolase Superfamilie)	1,474	2,212	1,702	1,770	3	0,020
cg1303		NTP-pyrophospho-Hydrolase	0,836	0,631	0,620	0,689	3	0,031
cg1308		Transkriptionsregulator, TetR-Familie	0,198	0,598	0,396	0,360	3	0,044
cg1313		putatives sekretiertes Lipoprotein	0,339	0,106	0,273	0,214	3	0,025
cg1314	<i>putP</i>	Prolintransportsystem	0,511	0,171	0,295	0,295	3	0,031
cg1317		putative 2-Oxosäure-Dehydrogenase	0,697	0,731	0,838	0,753	3	0,018
cg1327		putativer Transkriptionsregulator, Crp-Familie	3,250	3,335	5,485	3,903	3	0,008
cg1328		putatives Kupferchaperon	3,002	1,828	1,665	2,091	3	0,028
cg1332		putative sekretorische Hydrolase	0,209	0,228	0,103	0,170	3	0,010
cg1333	<i>argS</i>	Arginyl-tRNA-Synthetase	0,160	0,237	0,106	0,159	3	0,010
cg1334	<i>lysA</i>	Diaminopimelat-Decarboxylase	0,286	0,267	0,201	0,249	3	0,003
cg1335		hypothetisches Protein	0,650	0,603	0,457	0,564	3	0,017
cg1340	<i>arnR</i>	Transkriptionsregulator von narKGHI und hmp	1,695	2,646	5,505	2,912	3	0,045
cg1341	<i>narI</i>	Nitratreductase, gamma-Untereinheit, Cytochrom-b	1,897	6,556	12,441	5,369	3	0,046
cg1342	<i>narJ</i>	Nitratreductase, delta-Untereinheit, Assemblierungsfaktor	2,063	6,381	13,201	5,581	3	0,043
cg1343	<i>narH</i>	Nitratreductase, beta-Untereinheit, Eisen-Schwefel-Protein	1,818	5,657	9,264	4,567	3	0,044
cg1344	<i>narG</i>	Nitratreductase, alpha-Untereinheit, Mo-Cofaktor	2,304	10,282	8,126	5,774	3	0,032
cg1345	<i>narK</i>	Nitrat/Nitritantipporter	2,907	6,113	5,522	4,612	3	0,011
cg1348		Nitrat/Nitritantipporter	2,292	2,838	2,366	2,487	3	0,003
cg1350	<i>mob</i>	putatives Molybdopterin-guanidinucleotidbiosyntheseprotein	1,316	1,831	1,852	1,646	3	0,023
cg1351	<i>moeA3</i>	Molybdopterinbiosyntheseprotein	1,328	1,299	1,313	1,313	2	0,004
cg1352	<i>moaA</i>	Molybdenum-cofaktorbiosyntheseprotein A	3,179	2,947	2,282	2,775	3	0,005
cg1358		putativer Translationsfaktor (SUA5)	0,649	0,739	0,466	0,607	3	0,034
cg1374		hypothetisches Protein, konserviert	1,218	1,960	2,201	1,738	3	0,046
cg1381	<i>glgB</i>	Glycogen verzweigendes Enzym	2,231	3,008	1,346	2,083	3	0,044
cg1382	<i>glgE</i>	putative alpha-Amylase	2,367	3,901	1,503	2,403	3	0,043
cg1383		putative ABC-Typ Molybdenumtransportsystem, ATPase Komponente	1,429	2,763	2,256	2,073	3	0,032
cg1385		putative SAM-abhängige Methyl-Transferase	1,316	1,271	1,294	1,294	2	0,015
cg1392		putativer Transkriptionsregulator, CRO/Ci-Familie, HTA_3-Familie	1,940	1,849	2,166	1,981	3	0,002
cg1393		putative Acetyl-Transferase, GNAT-Familie	2,964	3,049	3,006	3,006	2	0,002
cg1400		putative DNA-Polymerase III Untereinheit epsilon	1,921	1,686	1,256	1,596	3	0,032

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg1405		putatives cytoplasmatisches Siderophoreinteragierendes Protein	1,086	1,336	1,422	1,273	3	0,048
cg1427		putative extrazelluläre Deoxyribonuclease	0,586	0,512	0,548	0,548	2	0,035
cg1434	<i>yggB</i>	kleiner leitfähiger mechanosensitiver Kanal	0,424	0,446	0,588	0,481	3	0,009
cg1435	<i>ilvB</i>	Acetolactatsynthase I, AHAS, große Untereinheit	0,415	0,353	0,192	0,304	3	0,019
cg1436	<i>ilvN</i>	Acetolactatsynthase I, AHAS, kleine Untereinheit	0,416	0,347	0,194	0,304	3	0,018
cg1437	<i>ilvC</i>	Ketolsäureducto-Isomerase	0,425	0,370	0,647	0,467	3	0,023
cg1453	<i>leuB</i>	3-Isopropylmalat-Dehydrogenase	1,269	1,784	2,145	1,693	3	0,038
cg1458	<i>odx</i>	Oxaloacetat-Decarboxylase	0,815	0,476	0,510	0,583	3	0,043
cg1462	<i>entC</i>	Isochorismat-Synthase	0,697	0,290	0,428	0,442	3	0,042
cg1479	<i>malP</i>	Maltodextrin-Phosphorylase	0,575	0,243	0,166	0,286	3	0,038
cg1484		putatives sekretiertes Protein	3,128	2,799	6,925	3,928	3	0,020
cg1485		putative metallabhängige Phosphohydrolase, RelA/SpoT Homolog	2,116	2,204	2,260	2,193	3	0,000
cg1486	<i>lthR</i>	Leucin- und Tryptophanbiosyntheseregulator, Transkriptionsrepressor, IclR	1,826	1,744	1,785	1,785	2	0,010
cg1492	<i>gpsA</i>	NAD(P)H-abhängige Glycerol-3-phosphat-Dehydrogenase	0,469	0,557	0,511	0,511	2	0,040
cg1495	<i>thiL</i>	Thiaminmonophosphat-Kinase	1,170	1,102	1,118	1,130	3	0,008
cg1497		putative Kinase ähnlich zu Dihydroxyacetat-Kinase	0,724	0,643	0,682	0,682	2	0,048
cg1503		putatives ABC-Typ Aminosäuretransportsystem, Permeasekomponente	0,610	0,308	0,200	0,335	3	0,039
cg1504		putatives ABC-Typ Aminosäuretransportsystem, Sekretionskomponente	0,314	0,160	0,206	0,218	3	0,008
cg1511		hypothetisches Protein, CGP1 Region	0,609	0,557	0,477	0,545	3	0,007
cg1514		putatives Sekretionsprotein	1,608	1,349	2,585	1,776	3	0,049
cg1530		putative SAM-abhängige Methyl-Transferase	0,824	0,670	0,672	0,718	3	0,020
cg1563	<i>infC</i>	Translationsinitiationsfaktor IF3	0,491	0,103	0,108	0,176	3	0,039
cg1564	<i>rpmI</i>	50S Ribosomalprotein L35	0,351	0,213	0,131	0,214	3	0,016
cg1570	<i>zgpB</i>	sekretierte n-Glycerol-3-phosphat-bindendes Protein	1,631	1,731	1,680	1,680	2	0,016
cg1579		putatives sekretiertes Protein	0,620	0,251	0,409	0,399	3	0,036
cg1594	<i>tyrS</i>	Tyrosyl-tRNA-Synthetase	1,322	1,779	1,900	1,647	3	0,023
cg1613	<i>sseA2</i>	Sulfur-Transferase zu Rhodanese zugeordnet	0,397	0,481	0,595	0,485	3	0,012
cg1614		putatives Segregations- und Kondensationsprotein	0,438	0,220	0,258	0,292	3	0,014
cg1618		hypothetisches Protein, konserviert	1,945	1,851	1,898	1,898	2	0,010
cg1619		putativer DNA-Gyraseinhibitor oder Transkriptionsregulator, AcaC-Familie	2,896	3,080	3,489	3,146	3	0,001
cg1622		putatives ABC-Typ Multidrug/Protein/Lipidtransportsystem, ATPase Komponente	1,444	1,598	1,519	1,519	2	0,037
cg1630	<i>adhI</i>	essentiell für Glutaminverwertung, reguliert ODH-Aktivität	2,952	3,519	2,213	2,843	3	0,008
cg1635		putatives Membranprotein	3,951	1,993	4,773	3,350	3	0,022
cg1643	<i>gnd</i>	6-Phosphogluconat-Dehydrogenase	1,631	1,532	1,157	1,424	3	0,039
cg1645		putative SAM-abhängige Methyl-Transferase	0,802	0,830	0,816	0,816	2	0,020
cg1646		putatives ABC-Typ Multidrugtransportsystem, ATPase Komponente	1,720	2,051	1,791	1,849	3	0,004
cg1647		putatives ABC-Typ Multidrugtransportsystem, Permease Komponente	2,000	2,038	2,019	2,019	2	0,001
cg1656	<i>ndh</i>	NADH-Dehydrogenase Typ II	0,563	0,378	0,166	0,328	3	0,045
cg1668		putatives Membranprotein	0,337	0,384	0,360	0,360	2	0,020
cg1673		Polyphenol-phosphate-mannose-Synthase, Domäne	2,251	2,083	2,166	2,166	2	0,015
cg1685	<i>totA</i>	Zwilling Arginin-Translocase Protein A	0,480	0,390	0,244	0,357	3	0,018
cg1692	<i>pimT</i>	SAM-abhängige Methyltransferase involviert in tRNA-Met Maturation	0,776	0,746	0,761	0,761	2	0,017
cg1696		putative antibiotische Permease, Hauptfacilitator Superfamilie	2,225	2,249	2,237	2,237	2	0,000
cg1697	<i>aspA</i>	Aspartatammonia-lyase (Aspartase)	0,382	0,447	0,266	0,357	3	0,011
cg1710	<i>uppP</i>	Undecaprenyl-pyrophosphat-Phosphatase	0,543	0,172	0,207	0,268	3	0,033
cg1724	<i>meaB</i>	Zusatzprotein der Methylmalonyl-CoA-Mutase	0,342	0,264	0,180	0,253	3	0,009
cg1725	<i>mutA</i>	Methylmalonyl-CoA-Mutase, alpha Untereinheit	0,408	0,595	0,233	0,384	3	0,036

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg1740		putative Nucleosidediphosphatzucker-Epimerase	2,168	2,488	3,485	2,659	3	0,010
cg1744	<i>pacL</i>	Kationtransportierende ATPase	4,113	5,750	12,513	6,664	3	0,014
cg1758		putatives Membranprotein	2,573	1,729	1,504	1,885	3	0,029
cg1760	<i>sufU</i>	Cysteindesulf-Hydraz	1,156	1,731	1,534	1,453	3	0,044
cg1771	<i>qor</i>	mögliche NADPH:Quinonereductase, Zeta-crystallin	2,731	1,874	4,403	2,824	3	0,026
cg1787	<i>ppc</i>	Phosphoenolpyruvatcarboxylase	4,638	8,851	6,849	6,551	3	0,005
cg1790	<i>pgk</i>	Phosphoglycerat-Kinase	2,129	11,156	9,921	6,177	3	0,038
cg1791	<i>gap</i>	Glyceraldehyde-3-phosphatdehydrogenase	3,546	17,126	15,314	9,761	3	0,023
cg1797	<i>ribH</i>	Riboflavinsynthase Untereinheit beta	0,687	0,898	0,653	0,739	3	0,046
cg1803	<i>fmt</i>	Methionyl-tRNA-formyl-Transferase		2,283	2,318	2,301	2	0,000
cg1808		hypothetisches Protein	1,415	1,527	2,006	1,631	3	0,022
cg1810	<i>qmk</i>	Guanylat-Kinase	0,438	0,390	0,136	0,285	3	0,039
cg1811	<i>ihf</i>	putativer Integrationsfaktor, konserviert	0,427	0,386	0,169	0,303	3	0,028
cg1821		hypothetisches Protein, konserviert	1,166	1,336	1,468	1,318	3	0,027
cg1825	<i>efp</i>	Elongationsfaktor P	0,287	0,276	0,197	0,250	3	0,004
cg1826	<i>pepQ</i>	XAA-pro-Amino-Peptidase	0,477	0,297	0,292	0,346	3	0,011
cg1835	<i>aroE3</i>	Shikimat-5-Dehydrogenase	0,122	0,148	0,124	0,131	3	0,000
cg1836		putatives sekretiertes substanzbindendes Protein, ähnlich wie Aminodeoxychorismatylase	0,343	0,244	0,170	0,243	3	0,010
cg1837		putative holliday junction resolvase-ähnlich Protein	0,281	0,260	0,168	0,230	3	0,006
cg1838	<i>aloS</i>	Alanyl-tRNA-Synthetase	0,606	0,566	0,290	0,463	3	0,041
cg1842		putative sekretierte Metalloprotease	0,302	0,357	0,156	0,256	3	0,016
cg1846		putativer Transkriptionsregulator, TetR-Familie	0,370	0,397	0,296	0,352	3	0,003
cg1848		putative Coenzyme F420-abhängiges N5,N10-Methylenetetrahydromethanopterin-Reductase oder Flavin-abhängig	0,905	0,863	0,936	0,901	3	0,022
cg1856		Zn-abhängige Hydrolase	0,411	0,670	0,316	0,444	3	0,033
cg1857	<i>ppiB</i>	Peptidyl-prolyl-cis-trans-Isomerase	0,552	0,332	0,324	0,390	3	0,016
cg1860		putatives Membranprotein		0,408	0,359	0,383	2	0,020
cg1865	<i>secF</i>	Preprotein Translocase, Untereinheit	0,235	0,688	0,288	0,360	3	0,045
cg1867	<i>secD</i>	Preprotein Translocase, Untereinheit	0,216	0,577	0,143	0,261	3	0,042
cg1870	<i>runA</i>	holliday junction DNA-Helicase/motorprotein		1,517	1,367	1,440	2	0,044
cg1873	<i>tesB2</i>	putative Acyl-CoA-thio-Esterase II		0,318	0,277	0,297	2	0,018
cg1894		hypothetisches Protein, CGP3 Region	0,481	0,427	0,397	0,434	3	0,002
cg1903		putatives ABC-Typ Multidrugtransportsystem, ATPase Komponente	2,067	1,896	1,289	1,716	3	0,032
cg1909		hypothetisches Protein, CGP3 Region	0,743	0,463	0,365	0,501	3	0,040
cg1910		putatives sekretiertes oder Membranprotein, CGP3 Region	0,594	0,404	0,236	0,384	3	0,005
cg1911		putativ sekretiertes Protein, CGP3 Region	0,077	0,043	0,059	0,058	3	0,032
cg1917		hypothetisches Protein, CGP3 Region		2,809	2,358	2,574	2	0,029
cg1918		putatives sekretorisches Protein, CGP3 Region	0,571	0,555	0,290	0,451	3	0,035
cg1926		hypothetisches Protein, CGP3 Region	0,700	0,697	0,414	0,587	3	0,046
cg1945		hypothetisches Protein, CGP3 Region, konserviert		0,721	0,692	0,706	2	0,015
cg1956	<i>recJ</i>	Einzelstrang-DNA-spezifische Exonuclease, CGP3 Region	5,505	4,426	2,053	3,685	3	0,024
cg1962		putatives Membranprotein, CGP2 Region	0,533	0,617	0,546	0,564	3	0,003
cg1968		hypothetisches Protein, CGP3 Region		0,941	0,962	0,952	2	0,049
cg1970		hypothetisches Protein, CGP3 Region	2,051	1,810	1,327	1,701	3	0,027
cg1992		hypothetisches Protein, CGP3 Region		1,616	1,900	1,752	2	0,045
cg1994		hypothetisches Protein, CGP3 Region		1,475	1,671	1,570	2	0,043
cg1996	<i>cglIM</i>	Modifikations-Methylase	0,233	0,282	0,213	0,241	3	0,002
cg1997	<i>cglIR</i>	Typ II Restriction-Endonuclease	0,171	0,029	0,196	0,099	3	0,032
cg1998		Restrictions-Endonuclease CGP3 Region	0,348	0,338	0,213	0,293	3	0,008
cg2001		hypothetisches Protein, CGP3 Region		2,006	2,034	2,020	2	0,000
cg2004		putatives Protein, ähnlich zu Lactobacillus Bakteriophage g1e		2,547	2,140	2,334	2	0,032
cg2016		hypothetisches Protein, CGP3 Region		2,052	2,405	2,222	2	0,031
cg2025		hypothetisches Protein, CGP3 Region		0,286	0,211	0,248	2	0,002
cg2036		putatives sekretorisches Protein, CGP3 Region	0,744	0,503	0,446	0,551	3	0,031
cg2042		putatives sekretorisches Protein, CGP3 Region		1,695	1,686	1,690	2	0,000

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg2043		hypothetisches Protein, CGP3 Region	0,410	0,341	0,361	0,369	3	0,001
cg2053		hypothetisches Protein, CGP3 Region	0,465	0,525	0,360	0,444	3	0,009
cg2054		hypothetisches Protein, CGP3 Region	0,548	0,308	0,240	0,344	3	0,024
cg2066		putatives Protein		1,278	1,241	1,259	2	0,013
cg2067		hypothetisches Protein, CGP3 Region		1,699	1,852	1,774	2	0,023
cg2078		Peptidmethioninsulfoxid-Reductase-ähnliches Protein	1,233	1,674	1,235	1,366	3	0,045
cg2079		putative Chlorit-Dismutase, konserviert	3,731	4,998	1,652	3,135	3	0,037
cg2088		hypothetisches Protein		1,356	1,525	1,438	2	0,050
cg2090		Myo-inositol-1(oder 4)-mono-Phosphatase		1,997	1,704	1,845	2	0,040
cg2091	<i>ppgK</i>	Polyphosphatgluco-Kinase	0,689	0,690	0,702	0,693	3	0,000
cg2102	<i>sigB</i>	RNA Polymerase sigma Faktor		1,967	1,735	1,847	2	0,032
cg2109	<i>oxyR</i>	Hydrogenperoxidesensorregulator, Lys-Familie	1,511	1,298	1,411	1,404	3	0,008
cg2125		putative Uracyl-Permease	0,590	0,676	0,347	0,517	3	0,042
cg2127		hypothetisches Protein	0,464	0,357	0,243	0,343	3	0,015
cg2132		hypothetisches Protein, konserviert	0,481	0,690	0,372	0,498	3	0,030
cg2134		putatives Membranprotein	1,379	2,671	1,845	1,894	3	0,039
cg2136	<i>gluA</i>	Glutamataufnahmesystem, ABC-Typ, ATP-bindendes Protein	0,374	0,104	0,263	0,217	3	0,029
cg2137	<i>gluB</i>	Glutamataufnahmesystem, ABC-Typ, sekretiertes Bindeprotein	0,446	0,082	0,203	0,195	3	0,040
cg2138	<i>gluC</i>	Glutamataufnahmesystem, ABC-Typ, Permease Untereinheit 1	0,441	0,123	0,155	0,203	3	0,028
cg2145		hypothetisches Protein, konserviert		0,496	0,484	0,490	2	0,002
cg2155		hypothetisches Protein, konserviert	0,433	0,298	0,297	0,337	3	0,006
cg2163	<i>dapB</i>	Dihydrodipicolinat-Reductase	1,546	1,396	1,217	1,380	3	0,021
cg2165		putatives sekretiertes Protein	1,971	1,301	1,617	1,606	3	0,029
cg2166	<i>gpsI</i>	Polyribonucleotidiphosphorylase / Guanosinpentaphosphatesynthetase	0,387	0,708	0,515	0,521	3	0,033
cg2167	<i>rpsO</i>	30S Ribosomalprotein S15	0,382	0,219	0,096	0,201	3	0,028
cg2172		putative Serine/Threoninspezifische Proteinphosphatase		0,618	0,568	0,592	2	0,025
cg2180		putatives sekretiertes Protein		0,547	0,530	0,538	2	0,004
cg2182		ABC-Typ Peptidtransportsystem, Permeasekomponente	0,270	0,074	0,125	0,135	3	0,017
cg2183		ABC-Typ Peptidtransportsystem, Permease Komponente	0,510	0,585	0,458	0,515	3	0,005
cg2185		Prolyl-tRNA-Synthetase	0,387	0,213	0,218	0,262	3	0,010
cg2186		hypothetisches Protein, konserviert	0,176	0,369	0,455	0,309	3	0,028
cg2194	<i>gor</i>	Dihydrodipicolamid-Dehydrogenase	1,448	1,933	1,639	1,662	3	0,013
cg2195		putativ sekretiertes oder Membranprotein	0,723	0,678	0,639	0,679	3	0,004
cg2198	<i>map2</i>	Methioninamino-Peptidase	0,665	0,787	0,485	0,633	3	0,042
cg2199	<i>pbp</i>	penicillinbindendes Protein, putative D-Alanyl-D-alanincarboxypeptidase	0,469	0,330	0,551	0,440	3	0,016
cg2200		zweiter Zwei-Komponenten-Antwort-Regulator für Heme Homöostase		0,896	0,883	0,889	2	0,003
cg2204	<i>hrtA</i>	ABC-Typ transportsystem, ATPase Komponente	1,785	1,272	1,296	1,433	3	0,041
cg2211		putatives Membranprotein	0,744	0,564	0,751	0,680	3	0,027
cg2213		putatives ABC-Typ Multidrugtransportsystem, ATPase Komponente	0,868	0,811	0,890	0,855	3	0,014
cg2222	<i>rpsB</i>	30S Ribosomalprotein S2	0,422	0,529	0,261	0,388	3	0,023
cg2230	<i>rnhB</i>	Ribonuclease HII	0,360	0,354	0,538	0,409	3	0,011
cg2232	<i>lepB</i>	putative Signalpeptidase I (spase I)	0,617	0,540	0,263	0,444	3	0,046
cg2234		putativer ABC-Typ siderophor-bindendes Lipoprotein		0,612	0,666	0,638	2	0,028
cg2241		Transkriptionshelferprotein, RNA-bindend	0,542	0,514	0,446	0,499	3	0,003
cg2247		hypothetisches Protein	1,764	1,688	1,799	1,750	3	0,000
cg2252		putative doppelsträngige beta-helix-Domäne	7,657	4,045	9,204	6,582	3	0,008
cg2253	<i>rpsP</i>	30S Ribosomalprotein S16	0,403	0,211	0,076	0,186	3	0,037
cg2273	<i>rncS</i>	Ribonuclease III	1,340	1,585	1,511	1,475	3	0,008
cg2275		putative Zellteilungsinitiationsprotein		1,282	1,227	1,254	2	0,025
cg2291	<i>pyk</i>	Pyruvat-Kinase	2,621	3,431	2,675	2,887	3	0,003
cg2303	<i>hisB</i>	Imidazoleglycerol-phosphat-Dehydratase	1,513	1,655	1,633	1,599	3	0,001
cg2304	<i>hisC</i>	Histidinil-phosphataminotransferase	1,470	1,801	1,767	1,673	3	0,007

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg2306		hypothetisches Protein, konserviert	1,236	1,408	1,570	1,398	3	0,020
cg2307		putatives Membranprotein	0,356	0,255	0,238	0,279	3	0,005
cg2308		putatives sekretorisches Protein	0,345	0,136	0,227	0,220	3	0,015
cg2310	<i>glqX</i>	Glycogenenzweigungsenzym	0,388	0,412	0,518	0,436	3	0,005
cg2311		putative SAM-abhängige Methyl-Transferase		6,672	8,935	7,721	2	0,023
cg2312	<i>gip</i>	putative Hydroxypyruvat-Isomerase	2,110	1,511	2,951	2,111	3	0,030
cg2323	<i>treY</i>	Maltooligosyltrehalosesynthase	2,096	4,532	2,545	2,891	3	0,022
cg2333	<i>treZ</i>	Malto-oligosyltrehalosetrehalohydrolase	1,429	2,408	1,898	1,869	3	0,027
cg2334	<i>ivaA</i>	Threonin-Dehydratase		0,637	0,551	0,592	2	0,044
cg2336		putatives sekretorisches Protein	0,287	0,057	0,114	0,123	3	0,023
cg2342		putative Dehydrogenase	1,928	3,183	3,655	2,820	3	0,017
cg2351		hypothetisches Protein	1,053	1,156	1,175	1,127	3	0,035
cg2352	<i>ansA</i>	L-Asparaginase		0,622	0,683	0,652	2	0,034
cg2353		putatives Protein, getrennt von der Insertion von ISG2e	0,606	0,633	0,536	0,591	3	0,004
cg2357		putativer Transkriptionsregulator, MerR-Familie		1,353	1,270	1,311	2	0,034
cg2363		hypothetisches Protein, konserviert		0,679	0,635	0,657	2	0,023
cg2376		putatives Sekretionsprotein	1,702	1,991	1,460	1,704	3	0,013
cg2377	<i>mraW</i>	S-Adenosyl-methyl-Transferase		1,806	1,574	1,686	2	0,041
cg2380		putatives Membranprotein		1,490	1,436	1,463	2	0,011
cg2388	<i>pknL</i>	putative Serine/Threoninprotein-Kinase		0,667	0,622	0,644	2	0,024
cg2389		putatives Membranprotein		0,828	0,776	0,801	2	0,043
cg2402	<i>nlpC</i>	putative sekretierte Zellwandpeptidase, NLP/P60-Familie	0,112	0,198	0,115	0,137	3	0,004
cg2403	<i>qcrB</i>	Cytochrom-b ₅ -Komplex, Cytochrom-b-Untereinheit	0,503	0,591	0,361	0,475	3	0,018
cg2404	<i>qcrA</i>	Cytochrom-b ₅ -Komplex, Rieske Eisen-Schwefel-Protein	0,427	0,616	0,409	0,476	3	0,015
cg2409	<i>ctaC</i>	Cytochrom-aa ₃ -Oxidase, Untereinheit 2	0,408	0,174	0,083	0,180	3	0,033
cg2411		putatives Protein HesB/YnfH-Familie, konserviert	2,339	1,959	2,854	2,356	3	0,008
cg2414	<i>cobT</i>	Nicotinate-nucleotide-dimethylbenzimidazolphosphoribosyl-Transferase	0,658	0,530	0,381	0,510	3	0,026
cg2417		putative kurzkettige Dehydrogenase/Oxidoreductase		1,541	1,465	1,503	2	0,017
cg2425	<i>sucE</i>	Succinatexporter	1,572	6,122	7,211	4,109	3	0,050
cg2434		putative luciferase-ähnliche Monooxygenase	2,162	2,013	1,686	1,943	3	0,006
cg2438		hypothetisches Protein	0,045	0,090	0,177	0,089	3	0,013
cg2440		putative Permease		0,327	0,436	0,378	2	0,047
cg2450		putatives Pyridoxinbiosyntheseenzyme	1,472	1,311	1,143	1,302	3	0,004
cg2451		hypothetisches Protein, konserviert		3,235	3,314	3,274	2	0,031
cg2455		putative Ribonuclease HI	2,436	4,990	3,401	3,458	3	0,013
cg2456		putatives Zn-Bandprotein, möglicherweise nucleinsäurebindend	2,007	3,844	5,982	3,587	3	0,028
cg2457		hypothetisches Protein, konserviert	2,081	2,449	2,793	2,424	3	0,004
cg2458	<i>pgp2</i>	vorhergesagte Phosphatase, HAD Familie	3,571	3,641	5,513	4,154	3	0,005
cg2459	<i>ptpA</i>	Protein-tyrosine-Phosphatase	5,386	4,635	3,551	4,459	3	0,003
cg2460		putatives Membranprotein	2,590	2,722	2,351	2,550	3	0,001
cg2465		hypothetisches Protein		1,570	1,484	1,526	2	0,018
cg2468		putatives verzweigt-kettiges Aminosäure ABC-Typ Transportsystem, Permease Komponente	0,225	0,260	0,160	0,211	3	0,004
cg2470		putativer sekretierter ABC Transporter, Substrat-bindendes Protein	0,290	0,430	0,152	0,267	3	0,024
cg2472		putative Hydrolase oder Acyl-Transferase	1,947	2,928	3,774	2,781	3	0,017
cg2478		putatives Penicillin-bindendes Protein		0,764	0,741	0,753	2	0,011
cg2484		hypothetisches Protein	0,691	0,851	0,841	0,790	3	0,037
cg2488		hypothetisches Protein, konserviert	1,651	1,537	1,425	1,535	3	0,004
cg2492	<i>glmS</i>	D-Fructose-6-phosphatamido-Transferase	0,118	0,208	0,223	0,176	3	0,007
cg2493		hypothetisches Protein	1,716	1,909	1,922	1,847	3	0,002
cg2495		hypothetisches Protein, konserviert	1,302	1,638	2,188	1,671	3	0,038
cg2496		putativ sekretiertes Protein	2,183	2,572	2,323	2,354	3	0,001
cg2500		putativer Transkriptionsregulator, ArsR-Familie	2,674	3,661	6,527	3,998	3	0,017
cg2508	<i>uppS2</i>	putative Diphosphat-Synthase	0,570	0,805	0,463	0,597	3	0,043
cg2518		putatives Sekretionsprotein		1,479	1,595	1,536	2	0,026

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg2520		hypothetisches Protein	1,234	1,532	1,712	1,479	3	0,027
cg2526		putatives sekretiertes oder Membranprotein		0,460	0,423	0,441	2	0,016
cg2528		putative Typ-B Carboxylesterase/Lipase Familie		0,574	0,505	0,538	2	0,032
cg2529	<i>treS</i>	Trehalose-Synthase (Maltose-alpha-D-glucosyl-Transferase)	1,057	1,071	1,069	1,065	3	0,000
cg2536	<i>metC</i>	Cystathionin-beta-Lyase	1,946	2,350	1,816	2,025	3	0,006
cg2539	<i>ectP</i>	Ecto/Prolin/Glycinebetaintransporter	0,233	0,500	0,438	0,371	3	0,026
cg2542		putativer sekundär Malonattransporter		0,897	0,886	0,892	2	0,001
cg2552		putatives ATPase Komponente vom ABC-Typ Transportsystem, beinhaltet dublierte ATPase-Domäne	0,383	0,473	0,783	0,522	3	0,046
cg2554	<i>rbsK2</i>	putative Ribokinase	4,304	2,577	4,005	3,541	3	0,008
cg2558		putatives Protein, ähnlich wie Aldose 1-epimerase		2,600	3,327	2,941	2	0,036
cg2563	<i>lcoP</i>	Ecto/betaintransporter		0,666	0,578	0,620	2	0,046
cg2564		hypothetisches Protein		0,259	0,343	0,298	2	0,037
cg2565		hypothetisches Protein	1,542	1,206	1,361	1,363	3	0,024
cg2574		putativer Threonintransporter, ThtB-Familie	0,655	0,602	0,469	0,570	3	0,015
cg2582		hypothetisches Protein, konserviert	0,224	0,509	0,248	0,305	3	0,022
cg2584	<i>nodD</i>	Nicotinsäure-mononucleotidadenyl-Transferase	0,466	0,674	0,650	0,589	3	0,023
cg2592		hypothetisches Protein		0,486	0,572	0,527	2	0,040
cg2595	<i>rplU</i>	50S Ribosomalprotein L21	0,352	0,255	0,100	0,208	3	0,026
cg2597	<i>rne</i>	putative Ribonuclease E (RNase E)		1,729	1,986	1,853	2	0,035
cg2599		putatives Pirin-ähnliches Proteinfragment	1,672	1,839	2,008	1,835	3	0,004
cg2606		hypothetisches Protein, konserviert	1,882		2,224	2,046	2	0,037
cg2610		putatives ABC-Typ Dipeptid/Oligopeptid/Nickeltransportsystem, sekretierte Komponente	0,290	0,089	0,379	0,214	3	0,037
cg2612		putatives Rossmann-fold nucleotidbindendes Protein		5,986	5,552	5,765	2	0,006
cg2613	<i>mdh</i>	Malat-Dehydrogenase	3,663	10,300	13,116	7,910	3	0,017
cg2617	<i>vanB</i>	Vanillat-Demethylase	0,364	0,251	0,285	0,296	3	0,004
cg2618	<i>vanK</i>	Transporter (Vanillat/Protocatechuat)		0,415	0,450	0,432	2	0,015
cg2620	<i>clpX</i>	ATP-abhängige Protease, ATP-bindende Untereinheit	2,646	2,794	1,532	2,246	3	0,026
cg2621		hypothetisches Protein, konserviert	1,177	1,754	1,559	1,476	3	0,040
cg2623	<i>pcaI</i>	β-Ketoacidipat-succinyl-CoA-Transferase Untereinheit	0,563	0,391	0,402	0,445	3	0,010
cg2625	<i>pcaF</i>	β-Ketoacidipat-CoA-Thiolase		1,457	1,331	1,393	2	0,041
cg2627	<i>pcaO</i>	Transkriptionsregulator des 4-Hydroxybenzoats, Protocatechuate, p-Cresol Stoffwechselweg		1,348	1,443	1,395	2	0,030
cg2631	<i>pcaH</i>	Protocatechuat-Dioxygenase beta Untereinheit		0,408	0,333	0,369	2	0,032
cg2636	<i>catA1</i>	Catechol 1,2-Dioxygenase	0,043	0,096	0,427	0,121	3	0,044
cg2651		putatives Proteinfragment, konserviert		0,241	0,308	0,272	2	0,030
cg2672	<i>crtB</i>	Phytoen-Synthetase		1,282	1,349	1,315	2	0,025
cg2676		putatives ABC-Typ Dipeptid/Oligopeptid/Nickeltransportsystem, Permease Komponente	0,635	0,628	0,332	0,510	3	0,044
cg2680		putative Aminotrasferase, Klasse III	0,434	0,798	0,387	0,512	3	0,048
cg2684		putatives Membranprotein, DedA-Familie	1,913	2,563	1,673	2,017	3	0,015
cg2685		putative kurzkettige Dehydrogenase/Reductase	3,344	6,207	11,071	6,125	3	0,017
cg2686		putativer Transkriptionsregulator, TetR-Familie	1,217	1,361	1,392	1,321	3	0,010
cg2688		ABC-Typ Molybdenumtransportersystem, ATPase Komponente/Photoreparaturprotein PhrA		0,753	0,805	0,779	2	0,040
cg2692		putative Thioesterase	0,369	0,615	0,543	0,497	3	0,023
cg2705	<i>amyE</i>	putativer ABC-Typ Zuckertransporter	0,510	0,652	0,660	0,603	3	0,013
cg2707		hypothetisches Protein, konserviert	0,387	0,621	0,699	0,552	3	0,041
cg2715		hypothetisches Protein, konserviert		1,375	1,368	1,372	2	0,000
cg2727		putatives Sekretionsprotein	0,763	0,826	0,774	0,787	3	0,004
cg2728	<i>glxK</i>	Glutaminase	1,470	1,578	1,367	1,469	3	0,005
cg2735		putatives Membranprotein	1,357	1,269	1,459	1,360	3	0,008
cg2761		putative metalabhängige Hydrolase der beta-Lactamase Superfamilie III		0,716	0,723	0,719	2	0,000
cg2765		putatives sekretorisches Protein	0,494	0,471	0,337	0,428	3	0,010
cg2768		putative L-Aminopeptidase/D-Esterase	2,479	2,380	1,661	2,140	3	0,013

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg2770		hypothetisches Protein, konserviert	1,420	2,385	2,388	2,007	3	0,028
cg2772	<i>clpS</i>	ATP-abhängige Clp-Proteaseverbindungspolypeptid	1,931	1,727	1,230	1,601	3	0,037
cg2773		putatives Protein mit SCP/PR1-Domäne	0,456	0,406	0,330	0,394	3	0,005
cg2775		hypothetisches Protein	0,849	0,704	0,605	0,712	3	0,037
cg2777		putatives Membranprotein	0,377	0,581	0,384	0,438	3	0,014
cg2786	<i>nrdE</i>	Ribonucleotide-diphosphat-Reductase alpha Untereinheit	0,459	0,578	0,423	0,482	3	0,008
cg2787	<i>nrdI</i>	putatives Protein	0,666	0,350	0,355	0,436	3	0,030
cg2789	<i>nrdH</i>	Mycoredoxin 2	0,052	0,174	0,231	0,128	3	0,023
cg2793		hypothetisches Protein, konserviert	2,248	3,080	3,159	2,796	3	0,005
cg2794		hypothetisches Protein, konserviert	2,559	4,849	7,452	4,522	3	0,020
cg2795		putative NADPH-Quinon-Reductase oder ähnliches Zn-abhängige Oxido-Reductase	1,128	1,417	1,487	1,335	3	0,038
cg2829	<i>murA2</i>	UDP-N-Acetylglucosamine 1-carboxyvinyl-Transferase	1,277	1,615	1,249	1,371	3	0,030
cg2833	<i>cysK</i>	O-Acetylserine-(thiol)-Lyase	1,486	2,408	2,055	1,944	3	0,021
cg2834	<i>cysE</i>	Serine-O-acetyl-Transferase	0,467	0,412	0,406	0,427	3	0,001
cg2835		putative Acetyl-Transferase	2,721	2,605	2,622	2,622	2	0,005
cg2838		putative Dithiol-disulfid-Isomerase	1,914	1,440	1,856	1,723	3	0,013
cg2839		hypothetisches Protein, konserviert	2,033	1,949	1,990	2	0,007	
cg2843	<i>psbB</i>	ABC-Typ Phosphattransportsystem, ATPase Komponente	2,359	2,002	2,173	2	0,033	
cg2848		putatives sekretiertes Protein	0,704	0,830	0,696	0,741	3	0,017
cg2850		hypothetisches Protein, konserviert	1,438	2,651	1,528	1,800	3	0,047
cg2852		putative Aminomethyl-Transferase, GCVT-Homolog	2,185	2,067	2,125	2	0,010	
cg2857	<i>purF</i>	Amidophosphoribosyl-Transferase	0,375	0,583	0,307	0,407	3	0,021
cg2859		hypothetisches Protein, konserviert	0,487	0,511	0,499	2	0,009	
cg2861		putatives Membranprotein, Hemolysin III Homolog	0,692	0,910	0,761	0,782	3	0,046
cg2870	<i>dctA</i>	Na ⁺ /H ⁺ -Dicarboxylat-Symporter	0,448	0,479	0,463	2	0,012	
cg2873	<i>ptrB</i>	Prolyl-oligo-Peptidase	0,538	0,381	0,715	0,527	3	0,036
cg2874	<i>hemH</i>	Phosphoribosylaminoimidazol-succinocarboxamid-Synthase	0,428	0,331	0,377	2	0,041	
cg2887	<i>phoS</i>	Zweikomponenten-Sensor-Kinase, Phosphatthomöostase	0,200	0,433	0,421	0,332	3	0,024
cg2888	<i>phoR</i>	Zweikomponenten-Antwort-Regulator, Phosphatthomöostase	0,317	0,631	0,283	0,384	3	0,031
cg2890		putatives Aminosäure verarbeitendes Enzym	4,428	5,238	5,697	5,093	3	0,001
cg2891	<i>pgo</i>	Pyruvat-chinon-Oxidoreductase	3,208	4,509	6,400	4,524	3	0,008
cg2894	<i>cgmR</i>	Multidrugresistenz-ähnlicher Transkriptionsfaktor, TetR-Familie	0,718	0,598	0,755	0,687	3	0,017
cg2895		putative Permease, Hauptfacilitator Superfamilie	0,573	0,779	0,547	0,625	3	0,026
cg2900	<i>ddh</i>	meso-Diaminopimelat-Dehydrogenase	2,165	2,191	2,237	2,198	3	0,000
cg2902		putative Hydrolase der NAD-Superfamilie	1,729	2,502	2,581	2,235	3	0,012
cg2910		Inositol-phosphat-Synthaseaktivator, LacI-Familie	0,872	0,847	0,954	0,890	3	0,041
cg2911		ABC-Typ Mn/Zn Transportsystem, sekretiertes Mn/Zn-bindendes (Lipid)protein	0,650	0,560	0,840	0,673	3	0,040
cg2927	<i>scrB</i>	putative Sucrose-6-phosphat-Hydrolase	0,581	0,307	0,365	0,402	3	0,021
cg2933	<i>nanE</i>	N-Acetylmannosamin-6-phosphat-2-Epimerase	0,595	0,408	0,593	0,524	3	0,018
cg2936		putativer Transkriptionsregulator, GntR-Familie	0,670	0,663	0,667	2	0,000	
cg2949		putatives sekretiertes Protein	0,455	0,408	0,277	0,372	3	0,011
cg2952		putatives sekretiertes Protein	1,629	1,816	2,523	1,954	3	0,018
cg2953		Benzaldehyd-Dehydrogenase	2,627	3,557	3,846	3,300	3	0,005
cg2954	<i>cynT</i>	Carbonican-Hydrazid	0,584	0,537	0,400	0,501	3	0,013
cg2957		hypothetisches Protein cg2957	1,919	3,214	5,877	3,310	3	0,033
cg2958	<i>butA</i>	L-2,3-Butanediol-Dehydrogenase/Aceton-Reductase	4,579	6,292	12,146	7,085	3	0,011
cg2959		putatives sekretiertes Protein	2,513	1,854	3,169	2,453	3	0,014
cg2962		Polysaccharide involviert	12,606	5,297	7,359	7,891	3	0,007
cg2964	<i>guaB1</i>	Inositol-5-monophosphat-Dehydrogenase	0,543	0,471	0,428	0,478	3	0,004
cg2968		hypothetisches Protein, konserviert	2,061	1,298	1,630	1,634	3	0,033
cg3004	<i>gabD2</i>	Succinic-semialdehyd-Dehydrogenase	2,059	2,554	2,294	2	0,041	
cg3011	<i>groEL</i>	Chaperonin	0,575	0,544	0,392	0,497	3	0,014
cg3013		hypothetisches Protein	0,384	0,706	0,582	0,540	3	0,038

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg3014		hypothetisches Protein	0,654	0,551	0,420	0,533	3	0,020
cg3015		hypothetisches Protein	0,621	0,747	0,413	0,577	3	0,044
cg3026	<i>mrpD</i>	Untereinheit 6 der Na ⁺ K ⁺ /H ⁺ Antiporter Mrp2	0,621	0,659	0,581	0,620	3	0,003
cg3028	<i>mrpF</i>	Untereinheit 6 der Na ⁺ K ⁺ /H ⁺ Antiporter Mrp2	0,567	0,616	0,547	0,576	3	0,002
cg3029	<i>mrpG</i>	Untereinheit 6 der Na ⁺ K ⁺ /H ⁺ Antiporter Mrp2	0,455	0,414	0,623	0,489	3	0,014
cg3030		putative Hydrolase oder Acyltransferase (alpha/beta Hydrolase Superfamilie)	0,488	0,531	0,495	0,505	3	0,001
cg3031		hypothetisches Protein, konserviert	0,698	0,643	0,422	0,575	3	0,035
cg3032		putatives sekretiertes Protein	0,676	0,751	0,490	0,629	3	0,034
cg3033		hypothetisches Protein, konserviert	0,690	0,422	0,455	0,510	3	0,024
cg3040		putative Epimerase, PhzC/PhzF Homolog	0,725	0,590	0,757	0,687	3	0,020
cg3046	<i>pknG</i>	Serine/Threoninprotein-Kinase	1,597	2,076	2,634	2,059	3	0,019
cg3048	<i>pta</i>	Phosphat-acetyl-Transferase	0,289	0,134	0,237	0,209	3	0,011
cg3050		putative Acyltransferase	0,711	0,451	0,422	0,513	3	0,028
cg3053		putative Permease, Hauptfacilitator Superfamilie	0,392	0,414	0,632	0,468	3	0,019
cg3054	<i>purT</i>	5'-Phosphoribosylglycinamid-Transformylase	0,944	0,492	0,378	0,451	3	0,006
cg3073	<i>sseA1</i>	putative Thiosulfat-sulfur-Transferase	4,799	2,309	3,217	3,291	3	0,015
cg3091		hypothetisches Protein, konserviert	1,742	1,514	1,917	1,716	3	0,008
cg3105		hypothetisches Protein	1,040	1,026	1,033	2	0,025	
cg3119	<i>cysI</i>	Sulfid-Reductase Flavoprotein	0,707	0,399	0,278	0,428	3	0,045
cg3120		hypothetisches Protein, konserviert	1,924	1,707	2,976	2,138	3	0,023
cg3130		putative Permease	0,643	0,516	0,842	0,654	3	0,048
cg3137	<i>iunH1</i>	Inosin-uridin-bevorzugte Nucleosid-Hydrolase	1,023	1,035	1,029	2	0,015	
cg3141	<i>hmp</i>	Flavohemoprotein	28,775	57,020	112,48	5,6935	3	0,005
cg3149	<i>alaT</i>	Aminotransferase, Alanin, Glutamat, 2-Aminobutyrat und Aspartat	0,261	0,254	0,417	0,303	3	0,009
cg3158	<i>nagA2</i>	beta-N-Acetylglucosaminidas-Vorläufer		0,591	0,533	0,561	2	0,027
cg3159		putatives universales Stressprotein UspA oder ähnlich zu Nucleotid-bindendem Protein	3,098	2,626	6,376	3,729	3	0,020
cg3167		hypothetisches Protein	1,979	1,251	1,930	1,684	3	0,036
cg3168		putative SAM-abhängige Methyl-Transferase	1,440	1,308	1,462	1,402	3	0,005
cg3169	<i>pck</i>	Phosphoenolpyruvatcarboxy-Kinase (GTP)	2,662	4,757	2,316	3,084	3	0,018
cg3170		telluritisches Protein oder entsprechende Permease		1,535	1,402	1,467	2	0,036
cg3172	<i>trmB</i>	tRNA (Guanine-N(7)-Methyl-Transferase		1,816	1,635	1,723	2	0,030
cg3179	<i>fadD2</i>	Acyl-CoA-Synthase	0,545	0,656	0,574	0,590	3	0,005
cg3186	<i>cmT2</i>	Trehalosecorynomycyl-Transferase	0,472	0,299	0,332	0,360	3	0,009
cg3189		Polyphenyl-Transferase	0,371	0,395	0,324	0,362	3	0,002
cg3190		putative membrane-assoziierte Phospholipid-Phosphatase	0,333	0,280	0,193	0,262	3	0,007
cg3191		putative Glycosyl-Transferase	0,404	0,597	0,286	0,410	3	0,026
cg3192		putativ sekretiertes Membranprotein	3,023	4,529	4,587	3,975	3	0,005
cg3193		putative membranassoziierte Phospholipid-Phosphatase	2,193	2,349	2,521	2,351	3	0,001
cg3196	<i>glf</i>	UDP-Galactopyranosemutase	0,450	0,612	0,576	0,541	3	0,011
cg3202		Transkriptionsregulator, GntR-Familie	2,442	3,385	4,999	3,457	3	0,013
cg3207	<i>pheA</i>	Prephenat-Dehydratase	0,510	0,393	0,261	0,374	3	0,019
cg3212		putatives Carboxymuconolacton-Decarboxylase Untereinheit	0,536	0,361	0,577	0,481	3	0,019
cg3218		putatives Protein	2,011	6,696	8,556	4,866	3	0,036
cg3219	<i>ldhA</i>	NAD-abhängige L-Lactat-Dehydrogenase	3,974	35,255	30,683	16,259	3	0,029
cg3223		putative NADPH-abhängige FMN-Reduktase	1,876	2,063	2,542	2,143	3	0,007
cg3224	<i>ldhR</i>	Repressor von cg3226, GntR-Familie	2,301	1,817	1,411	1,807	3	0,026
cg3225		putative Serine/Threonine-spezifische Phosphatase	2,091	1,629	1,853	1,848	3	0,007
cg3227	<i>lddD</i>	quinoneabhängige L-Lactat-Dehydrogenase	2,507	3,154	1,701	2,378	3	0,020
cg3235		hypothetisches Protein	2,476	1,389	3,007	2,179	3	0,039
cg3236	<i>msrA</i>	Peptid-methionin-sulfoxide-Reduktase		2,573	1,988	2,262	2	0,050
cg3248	<i>cgtS11</i>	erster Zweit-Komponenten-Sensor-Kinase für Heme Homöostase		0,828	0,816	0,822	2	0,001
cg3252		putatives Innenmembranprotein, Translocase Komponente	0,460	0,440	0,697	0,521	3	0,023

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg3253	<i>mcbR</i>	Transkriptionsregulator des Sulfatmetabolismus, TetR-Familie	1,276	1,232	1,694	1,386	3	0,041
cg3254		putatives Membranprotein		1,242	1,234	1,238	2	0,000
cg3255	<i>uspA3</i>	universales Stressprotein	2,499	4,836	5,831	4,130	3	0,016
cg3256		putative alkanal Monooxygenase alpha-Kette	1,901	1,802	1,460	1,710	3	0,011
cg3257		hypothetisches Protein	2,292	2,061	3,342	2,509	3	0,012
cg3272		putatives Membranprotein	1,673	2,052	2,636	2,084	3	0,015
cg3281		Cu2+/Kation-transportierendes ATPase, Transmembranprotein	2,938	4,237	8,795	4,784	3	0,020
cg3282		putatives Cu2+/schwermetallbindends Transportprotein	4,438	3,717	13,905	6,122	3	0,024
cg3283		hypothetisches Protein	2,955	5,356	16,632	6,409	3	0,033
cg3286		putatives sekretiertes Protein	0,890	0,720	0,694	0,763	3	0,037
cg3292		putatives Kupferchaperon	3,331	4,560	12,562	5,757	3	0,024
cg3293		hypothetisches Protein	1,236	1,630	2,027	1,598	3	0,041
cg3295		putativer Cd2+/Kationtransportierende ATPase	1,535	1,803	2,776	1,973	3	0,031
cg3303		putativer Transkriptionsregulator, PadR-Familie	2,181	4,790	3,788	3,408	3	0,017
cg3304	<i>dnaB</i>	replicative DNA-Helicase		1,282	1,384	1,332	2	0,040
cg3306	<i>rplI</i>	50S Ribosomalprotein L9	0,120	0,406	0,112	0,176	3	0,027
cg3307	<i>ssb</i>	Einzelstrang-DNA-bindendes Protein	0,337	0,349	0,121	0,242	3	0,028
cg3315		putativer Transkriptionsregulator, MarR-Familie	1,371	1,116	1,298	1,257	3	0,032
cg3324		putatives sekretierendes Protein	0,758	0,616	0,748	0,704	3	0,017
cg3327	<i>dps</i>	hungerinduziertes DNA-Schutzprotein	5,501	6,247	14,495	7,927	3	0,010
cg3330		putatives sekretierendes Protein	1,293	1,389	1,321	1,334	3	0,002
cg3331	<i>ogt</i>	methylierte DNA-Proteincysteinmethyl-Transferase	2,097	2,740	3,486	2,716	3	0,010
cg3332		putative Quinonoxido-Reductase	1,454	2,161	3,106	2,137	3	0,037
cg3335	<i>malE</i>	malic Enzyme	0,429	0,328	0,249	0,327	3	0,010
cg3350	<i>nagK</i>	Fumarylpyruvat-Hydrolase	1,443	2,449	2,455	2,055	3	0,027
cg3356		putativer Na+/H+-Dicarboxylatsymporter	0,471	0,203	0,268	0,295	3	0,019
cg3358		hypothetisches Protein	0,651	0,811	0,726	0,726	3	0,018
cg3359	<i>trpE</i>	Anthranilat-Synthase Komponente	0,409	0,750	0,578	0,562	3	0,041
cg3368		putativer ABC-Transporter, Permease	2,721	2,782	10,067	4,240	3	0,039
cg3389	<i>oxiC</i>	Myo-Inositol-Dehydrogenase	0,122	0,196	0,536	0,234	3	0,040
cg3390		putativer Myo-Inositolkatabolismus, Zuckerphosphatisomerase/epimerase	0,164	0,189	0,507	0,250	3	0,030
cg3391	<i>ociD</i>	Myo-Inositol-2-Dehydrogenase	0,106	0,191	0,458	0,210	3	0,033
cg3395	<i>proP</i>	Prolin/Ectoincarnier, MFS-Typ	0,612	0,244	0,330	0,366	3	0,033
cg3404		putatives sekretiertes siderophore-bindendes Lipoprotein	0,186	0,107	0,361	0,193	3	0,021
cg3419		putatives Membranprotein	0,501	0,767	0,474	0,567	3	0,032
cg3426	<i>parB</i>	putativer Transkriptionsregulator involviert in der Chromosomenverteilung	1,418	2,155	2,179	1,881	3	0,023
cg3428	<i>gidB</i>	glucoseinhibierendes Teilungsprotein B	1,365	2,334	1,874	1,814	3	0,031
cg3430		hypothetisches Protein, konserviert	0,429	0,702	0,286	0,442	3	0,044
cg3431	<i>rnpA</i>	Ribonuclease p	0,448	0,381	0,156	0,298	3	0,033
cg3432	<i>rpmH</i>	50S Ribosomalprotein L34	0,190	0,347	0,109	0,193	3	0,019
cg4000		hypothetisches Protein	1,561	1,265	2,040	1,591	3	0,039

Tabelle 21: Auflistung aller signifikant veränderter Gene aus den Transkriptomexperimenten. Das mRNA-Verhältnis von 120 Minuten anaerob vs. aerob wurde in drei biologisch unabhängigen Replikaten festgestellt. Der Durchschnitt der mRNA-Verhältnisse wurde mit n Replikaten errechnet.

Replikaten festgelegt. Der Durchschnittswert für die m-RNA-Verhältnisse wurde in								
Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	p-value	
			1	2	3	n		
cg0014		putatives Helix-turn-helix-Protein, CopG-Familie		1,222	1,149	1,185	2	0,024
cg0027		putativer Transkriptionsregulator, MarR-Familie		0,035	0,074	0,051	2	0,043
cg0031		putative Reduktase, ähnlich zu Diketogulonatreduktase	1,055	1,019		1,037	2	0,015
cg0046		putatives ABC-Transportprotein, ATP-bindende Komponente	1,260	1,162	1,820	1,386	3	0,035
cg0049		putatives Transmembranprotein, Rhomboid Familie		0,453	0,531	0,490	2	0,045
cg0061	<i>rodA</i>	putatives Zellzyklusprotein, FTSW/RODA/SPOVE-Familie	0,514	0,581	0,577	0,556	3	0,004
cg0064	<i>fhaA</i>	Cytoplasmatisches Protein mit FHA- und DUF-Domäne		0,378	0,381	0,380	2	0,000
cg0067	<i>gabD3</i>	Succinat-semialdehyd-Dehydrogenase (NADP ⁺)		1,890	1,926	1,908	2	0,000
cg0081		putative 4-Oxalocrotonat-Tautomerase		2,491	3,012	2,739	2	0,025
cg0092		putatives Membranprotein		1,635	1,442	1,536	2	0,032
cg0096		hypothetisches Protein, konserviert		0,641	0,618	0,629	2	0,011
cg0109	<i>lip1</i>	Triacylglycerollipase		1,240	1,393	1,314	2	0,040
cg0121		putative Permease, Hauptfacilitator Superfamilie		0,166	0,196	0,180	2	0,017
cg0124	<i>amn</i>	AMP Nucleosidase	1,101	1,175	1,388	1,215	3	0,017
cg0138		putatives ATP/GTP-bindendes Protein	0,917	1,181	1,172	1,083	3	0,048
cg0141		putative Glyoxalase/bleomycinresistentes Protein/Dioxigenase	1,383	1,713	3,353	1,995	3	0,042
cg0149	<i>panB</i>	3-Methyl-2-Oxobutanoathydroxymethyl-Transferase		0,343	0,418	0,379	2	0,038
cg0161		putatives Membranprotein	0,430	0,530	0,257	0,389	3	0,034
cg0172	<i>panD</i>	Aspartat-1-decarboxylase Vorläufer		0,260	0,201	0,228	2	0,031
cg0177		hypothetisches Protein	2,470	2,657	5,304	3,265	3	0,015
cg0178	<i>hrpB</i>	mögliche ATP-abhängige RNA-Helikase	1,463	1,824	2,162	1,793	3	0,011
cg0185		putative Glyoxalase/bleomycinresistentes Protein/Dioxigenase		1,097	1,106	1,101	2	0,000
cg0188		hypothetisches Protein, konserviert		1,277	1,205	1,240	2	0,019
cg0191		putativer Translationsinitiationsinhibitor	0,135	0,401	0,200	0,221	3	0,026
cg0193	<i>pepO</i>	Endopeptidase O	1,383	3,242	2,626	2,275	3	0,030
cg0197	<i>iolC</i>	Myo-Inositolkatabolismus, Carbohydrat-Kinase		0,068	0,038	0,051	2	0,033
cg0198		putatives Protein, konserviert, möglicherweise in den Myo-Inositolmetabolismus involviert		0,115	0,075	0,093	2	0,030
cg0199	<i>iolA</i>	Myo-Inositol Katabolismus, Aldehyd-Dehydrogenase		0,136	0,098	0,115	2	0,026
cg0203	<i>iolE</i>	2-Keto-myo-Inositol-Dehydratase	0,280	0,150	0,199	0,203	3	0,008
cg0204	<i>iolG</i>	putative Oxidoreductase-myo-Inositol-2-Dehydrogenase		0,115	0,184	0,145	2	0,043
cg0205	<i>iolH</i>	Myo-Inositolkatabolismusprotein	0,263	0,437	0,438	0,369	3	0,020
cg0223	<i>iolT1</i>	Myo-Inositoltransporter 1	0,341	0,090	0,309	0,212	3	0,042
cg0237		putative kurzkettige Dehydrogenase oder Oxidoreductase		5,699	3,608	4,534	2	0,043
cg0238		putative L-Gulonolacton-Oxidase	1,697	9,424	5,518	4,452	3	0,041
cg0239		hypothetisches Protein	2,418	2,386	4,080	2,866	3	0,010
cg0240		putatives Membranprotein	1,313	3,786	4,456	2,808	3	0,044
cg0241		hypothetisches Protein, konserviert		3,825	3,584	3,702	2	0,005
cg0242		hypothetisches Protein	1,953	2,707	6,951	3,325	3	0,035
cg0244		putatives Membranprotein	1,274	1,557	1,499	1,438	3	0,006
cg0245		hypothetisches Protein, konserviert	1,290	2,594	1,724	1,793	3	0,033
cg0250		putative Aminotransferase, Klasse V		1,475	1,744	1,604	2	0,040
cg0257	<i>moeB</i>	Molybdopterin-Cofaktor-Synthase, Untereinheit 3	1,373	2,212	3,290	2,154	3	0,033
cg0258	<i>moeE</i>	Molybdopterin-Cofaktor-Synthase, große Untereinheit 2	1,151	2,077	2,414	1,794	3	0,040
cg0259	<i>moeB</i>	Molybdopterin-Cofaktor-Biosyntheseprotein, Mog-Familie	1,340	3,250	3,850	2,560	3	0,039
cg0263	<i>modA</i>	ABC-Typ putatives Molybdat-Transporter, molybdat-bindendes sekretiertes Protein		1,405	1,481	1,443	2	0,011
cg0264		putativer molybdopterinumwandelter Faktor, kleine Untereinheit		2,154	2,265	2,209	2	0,005
cg0277	<i>dccT</i>	Dicarboxylataufnahmesystem (Succinat, Fumarat oder L-Malat), DASS-Familie		0,018	0,009	0,013	2	0,026
cg0281		putative Cytosin-Deaminase, tRNA-spezifische Adenosin-Deaminase		1,050	1,020	1,035	2	0,009

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg0282	<i>cybD</i>	putatives Protein, CsbD-Familie, möglicherweise in der Stressantwort involviert		3,449	2,584	2,985	2	0,036
cg0295		hypothetisches Protein, konserviert		2,622	1,985	2,281	2	0,044
cg0297		putative BCR, YbaB-Familie COG0718, DUF149-Familie		1,164	1,088	1,125	2	0,033
cg0298	<i>recR</i>	Rekombinationsprotein	0,473	0,422	0,310	0,396	3	0,013
cg0303	<i>leuA</i>	2-Isopropylmalat-Synthase	0,275	0,188	0,111	0,179	3	0,014
cg0309	<i>sigC</i>	RNA-Polymerase sigma Faktor, ECF-Familie	1,143	1,406	1,340	1,291	3	0,010
cg0337	<i>whcA</i> (<i>whiB4</i>)	negative Rolle bei der SigH-vermittelten (oxidativen) Stressantwort, WhiB-Homolog	0,418	0,379	0,650	0,469	3	0,035
cg0343		putativer Transkriptionsregulator, MarR-Familie		1,487	1,640	1,562	2	0,023
cg0349		putatives Metallo-beta-Lactamase superfamilie Protein		1,115	1,232	1,172	2	0,045
cg0354		putatives Thioendion-ähnliches Protein, sekretierte Thio-disulfid-Isomerase	1,023	1,271	1,387	1,217	3	0,028
cg0355		putative NTP Pyrophospho-Hydrolase	1,057	1,293	1,425	1,249	3	0,023
cg0359		putatives Membranprotein	1,310	2,224	1,724	1,713	3	0,022
cg0360		putative Phosphatase, konserviert	1,419	1,791	1,350	1,508	3	0,011
cg0363		putative Sekretions-ATPase		0,831	0,829	0,830	2	0,003
cg0376	<i>dnaX</i>	putative DNA-Polymerase III, delta Untereinheit, möglicherweise essentiell	1,123	1,193	1,426	1,241	3	0,016
cg0378		putatives Phage-assoziiertes Protein	1,354	1,219	2,061	1,504	3	0,035
cg0385	<i>bglS'</i>	beta-Glucosidase Vorläufer, N-terminale Domäne, putatives Pseudogen		0,569	0,501	0,534	2	0,042
cg0387	<i>adhE</i> (<i>fadhH</i>)	Zink-Typ Alcohol-Dehydrogenasetransmembranprotein	1,201	3,474	2,916	2,300	3	0,047
cg0388		putative Zn-abhängige Hydrolase		2,934	2,825	2,879	2	0,002
cg0391	<i>rmlB2</i>	putative dTDP-Glucose 4,6-dehydratase	0,490	0,644	0,668	0,595	3	0,035
cg0394		putative Glycosyltransferase	0,529	0,670	0,630	0,607	3	0,021
cg0400	<i>adhC</i>	Alcohol-Dehydrogenase, Klasse C	1,267	2,162	1,888	1,730	3	0,023
cg0409		putative Metallo-Peptidase	1,052	1,400	1,346	1,256	3	0,023
cg0410		putative Prolyl-endo-Peptidase		2,340	2,262	2,301	2	0,002
cg0416		putativ sekretiertes Protein, beinhaltet eine eukaryotische Domäne	0,426	0,440	0,320	0,392	3	0,008
cg0436		hypothetisches Protein		0,411	0,466	0,438	2	0,029
cg0437	<i>wzy</i>	putatives Membranprotein, in der Polysaccharidpolymerisation involviert	0,605	0,353	0,446	0,457	3	0,029
cg0441	<i>lpd</i>	Dihydroliipoamid-Dehydrogenase		2,154	2,020	2,086	2	0,009
cg0444	<i>ramB</i>	Transkriptionsregulator, involviert im Acetatmetabolismus, MerR-Familie	0,107	0,125	0,098	0,109	3	0,001
cg0445	<i>sdhC</i> <i>sdhCD</i>	Succinat:Menachinon-Oxidoreductase, Cytochrom-b Untereinheit	0,168	0,079	0,056	0,091	3	0,010
cg0446	<i>sdhA</i>	Succinat:Menachinon-Oxidoreductase, Flavoprotein Untereinheit	0,267	0,101	0,031	0,094	3	0,036
cg0447	<i>sdhB</i>	Succinat:Menachinon-Oxidoreductase, Eisen-Schwefel Protein Untereinheit	0,294	0,114	0,066	0,130	3	0,025
cg0448		putatives Membranprotein, konserviert	0,292	0,390	0,218	0,292	3	0,012
cg0451		putatives Membranprotein		1,508	1,616	1,561	2	0,015
cg0452		hypothetisches Protein	1,554	1,477	1,440	1,490	3	0,000
cg0455		putative Permease, Hauptfacilitator Superfamilie		0,357	0,353	0,355	2	0,000
cg0463	<i>csrR</i>	Transkriptionaler Repressor während Kupferlimitierung	0,957	1,112	1,055	1,039	3	0,020
cg0472		hypothetisches Protein, konserviert	0,508	0,507	0,346	0,447	3	0,019
cg0479		hypothetisches Protein	1,443	1,310		1,375	2	0,029
cg0480	<i>fadD5</i>	Acyl-CoA-Synthase	2,154	4,787	4,191	3,509	3	0,014
cg0482	<i>gpmA</i> <i>senX3</i> (<i>cgtS4</i>)	Phosphoglycerat-Mutase	1,812	3,493	3,579	2,829	3	0,016
cg0483		Zweikomponenten-Sensor-Kinase	1,354	2,486	3,124	2,191	3	0,031

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg0484	<i>regX3 (cgtR4)</i>	Zweikomponenten-Antwort-Regulator	1,285	3,253	1,972	2,020	3	0,042
cg0488	<i>ppx1</i>	Exopolyphosphatase, Ppx/GppA-Familie	1,267	1,523	1,675	1,479	3	0,010
cg0506		putativer ABC-Typ Supermidin/Putrescin/Eisen-Transporter, ATPase Untereinheit		0,148	0,192	0,168	2	0,026
cg0507		putativer ABC-Typ Supermidin/Putrescin/Eisen-Transporter, Permease Untereinheit	0,243	0,061	0,112	0,118	3	0,019
cg0508		putativer ABC-Typ Supermidin/Putrescin/Eisen-Transporter, substratbindendes Lipoprotein	0,193	0,174	0,111	0,155	3	0,005
cg0512	<i>hemB</i>	Delta-aminolevulinäure-Dehydratase, in Heme-Biosynthese involviert	1,117	2,341	2,249	1,805	3	0,044
cg0514		putatives Membranprotein		1,559	1,556	1,557	2	0,000
cg0524	<i>ccsB</i>	Cytochrome-c Aufbauamembranprotein, CcsA-Familie	1,165	1,493	1,406	1,347	3	0,012
cg0528		putativ sekretiertes Protein	2,948	3,522	6,429	4,056	3	0,011
cg0530		hypothetisches Protein		2,616	3,575	3,058	2	0,038
cg0542		hypothetisches Protein		0,332	0,352	0,342	2	0,008
cg0543		hypothetisches Protein	0,510	0,280	0,294	0,348	3	0,022
cg0548	<i>menB</i>	Naphthoat-Synthase	2,223	2,326	3,626	2,656	3	0,009
cg0549		putative Pterin-4-alpha-carbinolamin-Dehydratase	1,615	2,174	4,326	2,477	3	0,033
cg0559	<i>ispB</i>	putatives Octaprenyl-diphosphat-Synthaseprotein	0,496	0,686	0,466	0,541	3	0,033
cg0562	<i>nusG</i>	Transcriptionsantiterminator		2,048	1,973	2,010	2	0,003
cg0565	<i>gabR</i>	putativer Transkriptionsregulator	1,078	1,668	1,573	1,414	3	0,032
cg0572	<i>rplJ</i>	50S Ribosomalprotein L10	0,327	0,163	0,074	0,158	3	0,030
cg0579		putativer Transkriptionsregulator, HTH 3-Familie	1,837	2,055	1,988	1,958	3	0,001
cg0582	<i>rpsG</i>	30S Ribosomalprotein S7	0,306	0,576	0,222	0,340	3	0,041
cg0593	<i>rpsI</i>	30S Ribosomalprotein S10	0,251	0,282	0,140	0,215	3	0,012
cg0597	<i>rplW</i>	50S Ribosomalprotein L23	0,261	0,333	0,129	0,224	3	0,021
cg0599	<i>rpsS</i>	30S Ribosomalprotein S19	0,265	0,354	0,150	0,241	3	0,019
cg0601	<i>rpsC</i>	30S Ribosomalprotein S3	0,312	0,510	0,156	0,292	3	0,045
cg0612	<i>dkg</i>	2,5-Diketo-D-gluconsäure-Reductase	2,205	4,212	5,847	3,787	3	0,017
cg0618	<i>fdhF</i>	Format-Dehydrogenase-Oxidoreductase		2,079	2,078	2,079	2	0,000
cg0631	<i>rpsE</i>	30S Ribosomalprotein S5	0,182	0,324	0,093	0,177	3	0,024
cg0632	<i>rpmD</i>	50S Ribosomalprotein L30	0,161	0,334	0,089	0,168	3	0,026
cg0651	<i>infA</i>	Translationsinitiationsfaktor IF-1	0,465	0,464	0,207	0,355	3	0,042
cg0652	<i>rpsM</i>	30S Ribosomalprotein S13	0,293	0,351	0,215	0,281	3	0,008
cg0662		putative FAD/FMN-beinhaltende Dehydrogenase		2,636	3,177	2,894	2	0,024
cg0673	<i>rplM</i>	50S Ribosomalprotein L13	0,371	0,253	0,083	0,198	3	0,042
cg0674	<i>prpsI</i>	30S Ribosomalprotein S9	0,224	0,259	0,073	0,162	3	0,027
cg0683		putative Permease		9,012	16,378	12,149	2	0,035
cg0684	<i>papA</i>	Prolylamino-Peptidase A	2,036	3,186	3,933	2,944	3	0,012
cg0685		homolog zu metallabhängiger Protease, putative moleculare Chaperon		2,326	2,338	2,332	2	0,000
cg0686		Acetyl-Transferase, GNAT-Familie	2,062	2,123	2,321	2,166	3	0,001
cg0687	<i>gcp</i>	putative O-Sialoglycoproteinendo-Peptidase		2,259	2,580	2,414	2	0,019
cg0697		hypothetisches Protein, konserviert		1,832	1,646	1,737	2	0,022
cg0711		putatives Membranprotein	0,722	0,725	0,794	0,746	3	0,025
cg0719	<i>crtYe</i>	C50 Carotenoid-epsilon-Cyclase, Terpenoidsynthase	1,240	1,471	1,191	1,295	3	0,011
cg0720	<i>crtJ2</i>	Phytoen-Dehydrogenase (Desaturase)		1,258	1,298	1,278	2	0,004
cg0721	<i>crtB2</i>	Phytoen-Synthetase		1,419	1,313	1,365	2	0,023
cg0725		putativer Transkriptionsregulator, MarR-Familie	1,346	1,490	1,104	1,303	3	0,019
cg0726		putatives sekretiertes Lipoprotein	2,281	2,332	5,416	3,066	3	0,023
cg0727		putative Nucleosid-diphosphat-zucker-Epimerase		1,215	1,281	1,247	2	0,016
cg0736		putativer ABC-Transporter, ATPase-Komponente	0,381	0,409	0,141	0,280	3	0,042
cg0737		putativer ABC-Transporter, sekretiertes Lipoprotein	0,483	0,476	0,285	0,403	3	0,025
cg0739		putatives integrales Membranprotein		2,277	3,035	2,629	2	0,040
cg0740		putatives Membranprotein	1,177	2,136	2,352	1,808	3	0,036
cg0741	<i>sirR (mntT)</i>	Eisenrepressorprotein, DtxR-Familie		1,623	1,944	1,776	2	0,038

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg0764		putative Transkriptionsregulator, GntR-Familie		0,753	0,737	0,745	2	0,006
cg0765		putatives sekretorisches Protein	1,359	1,074	1,383	1,264	3	0,019
cg0773		putative Exodeoxyribo-Nuclease	0,469	0,482	0,341	0,426	3	0,012
cg0776		putatives sekretiertes Siderophor-bindendes Lipoprotein	1,831	2,175	1,164	1,668	3	0,034
cg0780		putatives Membranprotein, Ribonuclease BN-ähnliche Familie		4,161	6,127	5,049	2	0,034
cg0783		hypothetisches Protein, konserviert	0,520	0,397	0,222	0,358	3	0,038
cg0786	<i>upp</i>	Uracilphosphoribosyl-Transferase	0,473	0,579	0,393	0,476	3	0,018
cg0790	<i>lpdA</i>	Dihydrolipoamid-Dehydrogenase	0,541	0,747	0,658	0,643	3	0,050
cg0791	<i>pyc</i>	Pyruvatcarboxylase	0,247	0,167	0,049	0,127	3	0,030
cg0793		putatives sekretiertes Protein		1,394	1,400	1,397	2	0,000
cg0794	<i>yciC</i>	Cobalaminsyntheseprotein/P47K	1,210	1,100		1,154	2	0,046
cg0800	<i>prpR</i>	Transkriptionsaktivator des Propionatcatabolismus, MerR/HTH 3-Familie		0,287	0,358	0,321	2	0,036
cg0807		hypothetisches Protein, konserviert	1,626	3,158	4,446	2,837	3	0,027
cg0812	<i>dtSR1</i>	Acetyl/Propionyl-CoA-Carboxylase, beta Untereinheit	2,523	3,616	5,983	3,793	3	0,013
cg0825	<i>fabG</i>	3-Ketoacyl-(acyl-carrier-protein)reductase		0,558	0,570	0,564	2	0,000
cg0831	<i>tusG</i>	Trehaloseaufnahme-system, ABC-Typ, Permease	0,343	0,399	0,432	0,389	3	0,004
cg0832	<i>tusF</i>	Trehaloseaufnahme-system, ABC-Typ, membrandrurchspannendes Protein	0,290	0,379	0,498	0,380	3	0,018
cg0834	<i>tusE</i>	Trehaloseaufnahme-system, ABC-Typ, bakterielles extrazelluläres bindendes Protein	0,204	0,082	0,226	0,156	3	0,017
cg0837		hypothetisches Protein	1,131	1,167		1,149	2	0,006
cg0838		putative Helicase		1,374	1,495	1,433	2	0,023
cg0839		hypothetisches Protein		1,455	1,675	1,561	2	0,035
cg0850	<i>whcD (whiB2)</i>	Transkriptionsfaktor, whmD-Homolog		0,370	0,381	0,375	2	0,001
cg0852		hypothetisches Protein, konserviert		1,427	1,737	1,574	2	0,049
cg0855		hypothetisches Protein, konserviert	1,423	1,159	1,834	1,446	3	0,028
cg0868	<i>secA</i>	Preprotein Translocase, Untereinheit	0,399	0,567	0,465	0,472	3	0,014
cg0877	<i>rshA</i>	putativer Anti-sigma Faktor		0,733	0,761	0,747	2	0,034
cg0881	<i>rhIE</i>	mögliche ATP-abhängige RNA-Helicase	1,512	2,052	1,829	1,783	3	0,007
cg0882		hypothetisches Protein, konserviert		3,034	2,485	2,745	2	0,026
cg0883		putatives sekretiertes Protein		1,442	1,581	1,510	2	0,023
cg0884		hypothetisches Protein, konserviert		1,121	1,073	1,097	2	0,018
cg0889		putative DNA-Helicase, RecQ		1,197	1,242	1,219	2	0,008
cg0896		putatives Membranprotein		3,536	4,430	3,958	2	0,023
cg0906		hypothetisches Protein		1,431	1,503	1,467	2	0,010
cg0910	<i>hisN</i>	L-histidinol-phosphat-Phosphatase	1,267	1,932	1,863	1,658	3	0,019
cg0919	<i>tnp18a</i>	Transposase	2,260	2,413	2,761	2,469	3	0,001
cg0932		putatives Membranprotein	1,457	1,333	1,116	1,294	3	0,016
cg0933		putative DNA- oder RNA-Helicase der Superfamilie II	1,764	1,097	1,742	1,500	3	0,033
cg0934		hypothetisches Protein, konserviert		2,020	2,439	2,220	2	0,030
cg0938	<i>cspB</i>	Kälteschockprotein		0,283	0,349	0,314	2	0,033
cg0952		putatives Integralmembranprotein	0,496	0,320	0,206	0,320	3	0,031
cg0953	<i>mctC</i>	Monocarboxylsäuretransporter	0,393	0,179	0,170	0,229	3	0,020
cg0963		hypothetisches Protein		5,401	5,452	5,426	2	0,000
cg0964	<i>mxr1</i>	Mycoredoxin 1		1,117	1,095	1,106	2	0,001
cg0966	<i>thyA</i>	Thymidylat-Synthase		2,453	2,476	2,464	2	0,000
cg0967	<i>cysQ</i>	3'-Phosphoadenosin-5'-phosphosulfate (PAPS) 3'-Phosphatase	2,569	4,980	5,160	4,041	3	0,010
cg0973	<i>pgl</i>	Glucose-6-phosphat-Isomerase	1,707	4,735	5,652	3,575	3	0,030
cg0976	<i>pcrA</i>	ATP-abhängige Helicase PCRA	1,190	1,705	1,816	1,544	3	0,022
cg0984	<i>purH</i>	bifunktionale Phosphoribosylaminoimidazolecarboxamid-formyl-Transferase/IMP Cyclohydrolase		1,340	1,322	1,331	2	0,000
cg0991	<i>rpmB</i>	50S Ribosomalprotein L3	0,228	0,318	0,130	0,211	3	0,017
cg0994	<i>rpmE</i>	50S Ribosomalprotein L31	0,283	0,239	0,115	0,198	3	0,017
cg1002		putatives sekretorisches Protein, konserviert	2,822	2,412	3,351	2,836	3	0,003

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg1003	<i>fthC</i>	5-Formyltetrahydrofolat-cyclo-Ligase	1,812	2,759	5,996	3,106	3	0,033
cg1007		putatives Protein		1,213	1,337	1,274	2	0,035
cg1012	<i>cdaS</i>	Cyclomaltodextrinase		3,949	5,488	4,655	2	0,030
cg1014	<i>pmt</i>	Glycosyl-Transferase	0,477	0,342	0,216	0,328	3	0,027
cg1022	<i>tnp6a</i>	Transposasefragment		0,486	0,557	0,521	2	0,043
cg1039	<i>ipsE</i>	4-Diphosphocytidyl-2-C-methyl-D-erythritol-Kinase		1,441	1,366	1,403	2	0,012
cg1041	<i>pdxK</i>	Pyridoxal/Pyridoxine/Pyridoxamin-Kinase	1,365	1,604	1,439	1,466	3	0,003
cg1044		hypothetisches Protein, konserviert	2,277	2,012	4,265	2,693	3	0,019
cg1048		putative Haloacid-Dehalogenase/Epoxidhydratase Familie	1,627	1,591	1,940	1,712	3	0,004
cg1049		putative Enoyl-CoA-Hydrotase/Isomerase		2,188	2,031	2,108	2	0,011
cg1052	<i>cmt3</i>	Corynomycyltransferase	0,468	0,345	0,174	0,304	3	0,036
cg1053	<i>mmpLR</i>	Transkriptionsregulator, TetR-Familie	0,520	0,258	0,183	0,291	3	0,037
cg1072	<i>rplY</i>	50S Ribosomalprotein L25	0,125	0,222	0,064	0,121	3	0,016
cg1073		putative Lactoylglutathion-Lyase		2,518	3,497	2,968	2	0,041
cg1075	<i>prsA</i>	Ribose-phosphatpyrophospho-Kinase	0,396	0,568	0,291	0,403	3	0,031
cg1076	<i>glmU</i>	putativer UDP-N-Acetylglucosamin-Pyrophosphorylase	0,180	0,302	0,130	0,192	3	0,013
cg1080		putative Multikupfer-Oxidase	2,975	10,251	9,972	6,725	3	0,018
cg1081		putatives ABC-Typ Multidrugtransportsystem, ATPase-Komponente	3,605	5,468	4,954	4,605	3	0,003
cg1082		putatives Membranprotein	1,613	3,668	2,147	2,333	3	0,026
cg1083	<i>cgtS10</i>	Zweikomponenten-Sensor-Kinase		2,766	2,411	2,582	2	0,019
cg1084	<i>cgtR10</i>	Zweikomponenten-Antwort-Regulator	3,480	2,692	1,739	2,535	3	0,016
cg1086		putatives Membranprotein		0,760	0,786	0,773	2	0,042
cg1089		putatives ABC-Typ Multidrug/Protein/Lipidtransportsystem, ATPase Komponente		0,528	0,523	0,526	2	0,000
cg1090	<i>ggtB</i>	mögliche gamma-Glutamyltrans-Peptidase Vorläufer		0,530	0,571	0,550	2	0,025
cg1091		hypothetisches Protein	3,877	3,731	3,828	3,811	3	0,000
cg1101		putatives ABC-Typ Multidrug/Protein/Lipidtransportsystem, Membrankomponente	1,370	1,729	2,503	1,810	3	0,025
cg1109	<i>porB</i>	Anion-spezifischer Porinvorläufer	0,381	0,365	0,445	0,396	3	0,003
cg1110		hypothetisches Protein, konserviert		0,453	0,499	0,475	2	0,024
cg1111	<i>eno</i>	Enolase, Phosphopyruvat-Hydratase	1,564	6,092	4,944	3,612	3	0,038
cg1117		hypothetisches Protein		1,569	1,807	1,683	2	0,032
cg1139		putative allophanate Hydrolase Untereinheit 2	0,301	0,093	0,043	0,106	3	0,034
cg1140		putative allophanate Hydrolase Untereinheit 1	0,215	0,076	0,113	0,123	3	0,012
cg1142		putativer Na+/Prolin, Na+/Panthothenat-Symporter	0,326	0,052	0,052	0,096	3	0,035
cg1143		putativer Transkriptionsregulator, GntR-Familie		0,332	0,356	0,344	2	0,010
cg1150		putative NADPH-abhängige FMN-Reductase		0,726	0,742	0,734	2	0,004
cg1162	<i>xseB</i>	Exodeoxyribonuclease VII keine Untereinheit		1,426	1,616	1,518	2	0,033
cg1163	<i>xseA</i>	Exodeoxyribonuclease VII große Untereinheit		1,966	1,871	1,918	2	0,006
cg1166		putatives Membranprotein		2,366	2,800	2,574	2	0,023
cg1180		putative Glycosyl-Transferase, möglicherweise in Zellwandbiogenese involviert		3,310	5,454	4,249	2	0,049
cg1187	<i>tnp10a</i>	Transposasefragment	1,508	2,069	4,314	2,379	3	0,040
cg1202		hypothetisches Protein, konserviert	2,205	2,623	3,602	2,751	3	0,007
cg1203		putative Mg-Chelatase Untereinheit ChlI	1,262	2,190	2,359	1,915	3	0,031
cg1216	<i>nadA</i>	Quinolinat-Synthetase	1,629	2,267	2,818	2,183	3	0,013
cg1218	<i>ndnR</i>	Transkriptionsrepressor der NAD- de novo Biosynthesegene	1,376	1,077	1,988	1,434	3	0,049
cg1227	<i>ykoE</i>	substrate-spezifische Komponente des thiaminregulierten ECF Transporters für Hydroxymethylpyrimidin		0,017	0,045	0,028	2	0,045
cg1236	<i>tpx</i>	Thiolperoxidase		5,097	6,484	5,749	2	0,020
cg1238		putatives Membranprotein		1,036	1,109	1,072	2	0,041
cg1247		putatives sekretorisches Protein	1,318	1,771	1,121	1,378	3	0,034
cg1248		putative GTPase involviert in der Stressantwort	0,354	0,354	0,133	0,255	3	0,034
cg1250	<i>mshB</i>	putative Deacetylase		0,739	0,713	0,726	2	0,023
cg1251		hypothetisches Membranprotein		1,106	1,194	1,149	2	0,036
cg1259	<i>dapD2</i>	putative Tetrahydrodipicolinat-N-succinyltransferase	1,831	2,540	1,817	2,037	3	0,008
cg1265		hypothetisches Protein, konserviert		2,753	2,159	2,438	2	0,036

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg1266	<i>rmaA</i>	rRNA-Guanine-N1-methyl-Transferase	1,289	1,141	1,424	1,279	3	0,011
cg1267		putative beta-Fructosidase (Levanase/Invertase)	1,159	1,582	2,194	1,590	3	0,038
cg1268	<i>glgA</i>	Glycogen-Synthase		1,984	2,270	2,122	2	0,022
cg1269	<i>glgC</i>	ADP-Glucosepyro-Phosphorylase		1,602	1,949	1,767	2	0,041
cg1270		putative O-Methyl-Transferase	1,692	2,279	2,851	2,223	3	0,012
cg1279		putatives sekretorisches Protein	2,739	5,599	8,780	5,125	3	0,017
cg1282		hypothetisches Protein, konserviert	1,418	1,623	2,038	1,674	3	0,011
cg1283	<i>aroE (aroE1, aroE2)</i>	Shikimat-5-Dehydrogenase	1,311	2,076	1,990	1,756	3	0,019
cg1284	<i>lipT</i>	Typ B Carboxylesterase	1,698	4,972	10,003	4,387	3	0,043
cg1285		hypothetisches Protein, konserviert		4,006	5,184	4,557	2	0,024
cg1286		hypothetisches Protein, konserviert		3,054	2,660	2,850	2	0,017
cg1291		putatives Membranprotein		14,887	28,118	20,459	2	0,032
cg1307		putative Superfamilie II DNA- und RNA-Helicase	1,794	4,329	1,767	2,394	3	0,036
cg1320	<i>lipP</i>	Lipase, konserviert		0,686	0,655	0,670	2	0,023
cg1322		putatives Protein, konserviert, Ycel-Homolog	1,322	1,857	1,855	1,657	3	0,013
cg1332		putative sekretorische Hydrolase	0,346	0,301	0,208	0,279	3	0,009
cg1333	<i>argS</i>	Arginyl-tRNA-Synthetase	0,194	0,215	0,069	0,142	3	0,019
cg1334	<i>lysA</i>	Diaminopimelat-Decarboxylase	0,266	0,313	0,116	0,213	3	0,023
cg1340	<i>arnR</i>	Transkriptionsregulator von narKGHI und hmp	1,522	4,187	5,193	3,210	3	0,036
cg1341	<i>narI</i>	Nitratreductase, gamma-Untereinheit, Cytochrom-b	2,874	8,253	10,707	6,332	3	0,019
cg1342	<i>narJ</i>	Nitratreductase, delta-Untereinheit, Assemblierungsfaktor	3,453	9,479	11,072	7,130	3	0,014
cg1343	<i>narH</i>	Nitratreductase, beta-Untereinheit, Eisen-Schwefel-Protein	2,768	7,853	9,712	5,954	3	0,019
cg1344	<i>narG</i>	Nitratreductase, alpha-Untereinheit, Mo-Cofaktor	2,269	10,522	9,789	6,159	3	0,029
cg1345	<i>narK</i>	Nitrat/Nitritantiporter	2,373	8,519	9,827	5,835	3	0,025
cg1347		putative sekretierte Phospholipid-Phosphatase	1,029	1,067		1,048	2	0,016
cg1350	<i>mob</i>	putatives Molybdopterin-guanindinucleotidbiosyntheseprotein		1,477	1,712	1,591	2	0,036
cg1351	<i>moeA3</i>	Molybdopterinbiosyntheseprotein		1,158	1,230	1,193	2	0,023
cg1352	<i>moeA</i>	Molybdenum-cofaktorbiosyntheseprotein A	3,473	4,829	5,557	4,534	3	0,003
cg1374		hypothetisches Protein, konserviert		2,581	3,227	2,886	2	0,028
cg1375		putatives Thioerodoxin		2,306	2,275	2,290	2	0,000
cg1380	<i>ssuA</i>	aliphatische sulfonat-bindendes Protein		2,902	2,417	2,648	2	0,025
cg1381	<i>glgB</i>	Glycogen verzweigendes Enzym		2,683	2,511	2,595	2	0,007
cg1382	<i>glgE</i>	putative alpha-Amylase		3,913	2,845	3,337	2	0,037
cg1383		putativer ABC-Typ Molybdenumtransportsystem, ATPase Komponente	1,205	2,636	3,388	2,208	3	0,046
cg1399		putative Permease, Hauptfacilitator Superfamilie		1,752	1,721	1,736	2	0,000
cg1400		putative DNA-Polymerase III Untereinheit epsilon		2,199	2,354	2,275	2	0,009
cg1401	<i>ligA</i>	DNA-Ligase		3,013	2,462	2,723	2	0,027
cg1402		hypothetisches Protein, konserviert		2,015	1,849	1,930	2	0,015
cg1405		putatives cytoplasmatisches Siderophoreinteragierendes Protein		1,357	1,511	1,432	2	0,031
cg1408		hypothetisches Protein		3,207	2,358	2,750	2	0,041
cg1409	<i>pfkA (pfk)</i>	6-Phosphofructo-Kinase		4,090	2,897	3,442	2	0,039
cg1423		putative Oxidoreductase (ähnlich zu Aryl-alcohol-Dehydrogenase)		2,864	3,521	3,176	2	0,024
cg1429		putatives Membranprotein		1,856	2,160	2,002	2	0,027
cg1433		hypothetisches Protein, konserviert	1,322	1,784	1,563	1,545	3	0,010
cg1437	<i>ilvC</i>	Ketolsäureducto-Isomerase	0,543	0,332	0,483	0,443	3	0,024
cg1456		putatives Signalübertragungsprotein, beinhaltet cAMP-bindende und CBS Domäne		0,601	0,555	0,577	2	0,030
cg1462	<i>entC</i>	Isochorismat-Synthase	0,703	0,488	0,492	0,553	3	0,035
cg1466		putatives sekretiertes Protein		1,311	1,525	1,414	2	0,045
cg1494		putatives sekretiertes Protein		0,747	0,707	0,727	2	0,048
cg1495	<i>thiL</i>	Thiaminmonophosphat-Kinase	1,616	1,461	1,236	1,429	3	0,010

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg1499		putatives Protein, Ähnlichkeit zu Biotin-carboxyl-carrierprotein	1,414	1,746	1,782	1,639	3	0,006
cg1501	<i>coaD</i>	Phosphopantetheinadenylyl-Transferase	1,141	1,338	1,186	1,219	3	0,008
cg1508		putatives Pseudogen, ähnlich zu Psp1 CGP1-Region	0,565	0,621	0,352	0,498	3	0,047
cg1510		hypothetisches Protein, konserviert		0,906	0,936	0,921	2	0,038
cg1514		putatives Sekretionsprotein	3,403	2,610	5,456	3,646	3	0,011
cg1525	<i>polA</i>	DNA-Polymerase I		2,601	3,217	2,893	2	0,027
cg1526		putatives Multidrug-Permease, Hauptfacilitator Superfamilie	1,307	1,413		1,359	2	0,023
cg1543	<i>uriH</i> (<i>iunH3</i>)	Inosin-Uridin bevorzugende Nucleosid-Hydrolase	1,231	1,974	2,136	1,732	3	0,026
cg1546	<i>rbsK1</i>	putative Ribo-Kinase		1,749	1,599	1,673	2	0,019
cg1547	<i>uriR</i>	Uridinverbrauchender Transkriptionsregulator des uri-Operons, LacI-Familie	1,417	1,060	1,068	1,171	3	0,038
cg1550	<i>uvrB</i>	Excinuclease ABC Untereinheit B		2,373	1,905	2,126	2	0,037
cg1556		hypothetisches Protein, konserviert		1,588	1,463	1,524	2	0,020
cg1559		putative Zn-abhängige Hydrolase		2,975	2,124	2,514	2	0,049
cg1563	<i>infC</i>	Translationsinitiationsfaktor IF3	0,431	0,452	0,183	0,329	3	0,042
cg1564	<i>rpmI</i>	50S Ribosomalprotein L35	0,303	0,280	0,180	0,248	3	0,009
cg1568	<i>ugpA</i>	ABC-Typ Sn-Glycerol-3-phosphattransportsystem, Permease		1,737	1,768	1,752	2	0,000
cg1579		putatives sekretiertes Protein	0,473	0,503	0,568	0,514	3	0,005
cg1592		hypothetisches Protein, konserviert	1,514	1,776	1,873	1,714	3	0,004
cg1594	<i>tyrS</i>	Tyrosyl-tRNA-Synthetase	1,541	1,842	1,611	1,660	3	0,003
cg1599		hypothetisches Protein		2,090	1,769	1,923	2	0,031
cg1608	<i>xerD</i>	Tyrosin-Recombinase		1,030	1,004	1,017	2	0,006
cg1614	<i>scpB</i>	putatives Segregations- und Kondensationsprotein	0,236	0,200	0,189	0,207	3	0,001
cg1618		hypothetisches Protein, konserviert		2,825	3,857	3,301	2	0,036
cg1619		putativer DNA-Gyraseinhibitor oder Transkriptionsregulator, AcaC-Familie	2,475	3,394	4,784	3,425	3	0,009
cg1624	<i>nhaP</i>	Na ⁺ K ⁺ /H ⁺ Antiporter		2,131	1,767	1,941	2	0,035
cg1630	<i>adhI</i>	essentiell für Glutaminverwertung, reguliert ODH-Aktivität	1,991	4,480	3,138	3,036	3	0,016
cg1633		putatives Transkriptionsregulator, MerR-Familie		1,832	2,137	1,979	2	0,028
cg1639		putatives Membranprotein beinhaltet CBS-Domäne	1,457	1,153	1,140	1,242	3	0,020
cg1643	<i>gnd</i>	6-Phosphogluconat-Dehydrogenase		2,185	1,920	2,048	2	0,022
cg1654	<i>thiD1</i>	Thiaminphosphat-Pyrophosphorylase		1,522	1,626	1,573	2	0,014
cg1655	<i>thiM</i>	Hydroxyethylthiazol-Kinase		2,816	2,555	2,682	2	0,012
cg1657	<i>ufaA</i>	putative Cyclopropan-fettsäure-Synthase (Cyclopropan-fettsäure-phospholipid-Synthase)	0,924	1,016	1,151	1,026	3	0,046
cg1671		putative membranassoziierte GTPase		2,031	2,552	2,276	2	0,036
cg1673	<i>ppmIV</i>	Polyphenol-phosphate-mannose-Synthase, Domäne		1,836	2,196	2,008	2	0,032
cg1675		putatives Membranprotein		2,942	2,611	2,771	2	0,015
cg1676	<i>lip3</i>	putative Lipase		2,347	2,607	2,473	2	0,014
cg1678	<i>codL</i>	Methyltransferase (decarboxylierend)	1,272	1,704	1,541	1,495	3	0,011
cg1680		putative kurzkettige Dehydrogenase oder Reductase		1,864	2,118	1,987	2	0,023
cg1681	<i>pepE</i>	Prolin-Dipeptidase		1,815	1,918	1,866	2	0,008
cg1682		putative trypsin-ähnliche Serinprotease		1,297	1,469	1,380	2	0,039
cg1692	<i>pimT</i>	SAM-abhängige Methyltransferase involviert in tRNA-Met Maturation	1,158	0,995	1,071	1,073	3	0,015
cg1695		putatives Plasmiderhaltungssystem		0,432	0,514	0,471	2	0,046
cg1697	<i>aspA</i>	Aspartatammonia-lyase (Aspartase)	0,560	0,686	0,539	0,592	3	0,020
cg1702		hypothetisches Protein	1,167	1,138	0,970	1,088	3	0,024
cg1706	<i>arsC1</i>	Arsenat-Reductase		1,160	1,260	1,209	2	0,033
cg1724	<i>meoB</i>	Zusatzprotein der Methylmalonyl-CoA-Mutase	0,300	0,353	0,361	0,337	3	0,002
cg1728		hypothetisches Protein	1,307	1,670	1,873	1,599	3	0,013
cg1739	<i>got</i>	Glutaminamido-Transferase	1,193	1,219	1,096	1,168	3	0,004
cg1743		hypothetisches Protein, konserviert		1,618	1,422	1,517	2	0,034
cg1746		putatives Membranprotein, CGP2 Region		3,129	3,531	3,324	2	0,013
cg1758		putatives Membranprotein		3,203	3,513	3,354	2	0,009
cg1759		putatives Fe-S-clusteraufbauprotein		2,673	2,186	2,417	2	0,030

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg1764	<i>sufB</i>	Fe-S-cluster Aufbauprotein	1,554	3,121	1,837	2,073	3	0,025
cg1765	<i>sufR</i>	Transkriptionsregulator des suf-Operons	1,784	3,324	2,392	2,420	3	0,014
cg1769	<i>ctaA</i>	Cytochromoxidase Aufbauprotein	0,970		0,938	0,954	2	0,028
cg1786	<i>secG</i>	proteinexportierendes Membranprotein		0,691	0,641	0,665	2	0,045
cg1787	<i>ppc</i>	Phosphoenolpyruvatcarboxylase	2,196	6,577	9,618	5,179	3	0,027
cg1789	<i>tpi</i>	Triosephosphat-Isomerase	1,827	8,888	9,742	5,409	3	0,038
cg1790	<i>pgk</i>	Phosphoglycerat-Kinase	2,019	9,166	8,063	5,304	3	0,032
cg1791	<i>gapA</i> (<i>gap</i>)	Glyceraldehyde-3-phosphatdehydrogenase	4,717	15,064	38,058	13,933	3	0,022
cg1799	<i>ribC</i>	Riboflavinsynthase Untereinheit alpha		1,646	1,422	1,530	2	0,038
cg1800	<i>ribG</i>	putative bifunktionale riboflavinspezifische Deaminase/Reductase		1,361	1,474	1,416	2	0,022
cg1803	<i>fnt</i>	Methionyl-tRNA-formyl-Transferase		1,849	2,270	2,049	2	0,036
cg1804	<i>def2</i>	Peptid-Deformylase		2,006	1,830	1,916	2	0,016
cg1808		hypothetisches Protein	1,822	1,482	2,717	1,943	3	0,021
cg1819		putative Nucleosiddiphosphatzucker-Epimerase, SulA-Familie	1,154	1,975	2,216	1,716	3	0,036
cg1821		hypothetisches Protein, konserviert	1,540	2,071	2,840	2,084	3	0,018
cg1822		hypothetisches Protein, konserviert	1,294	2,060	2,168	1,795	3	0,022
cg1823		hypothetisches Protein		1,760	1,963	1,859	2	0,021
cg1825	<i>efp</i>	Elongationsfaktor P	0,284	0,368	0,265	0,303	3	0,005
cg1826	<i>pepQ</i>	XAA-pro-Amino-Peptidase	0,406	0,539	0,393	0,441	3	0,011
cg1833		putatives sekretierendes substrat-bindendes Lipoprotein		0,345	0,397	0,370	2	0,026
cg1835	<i>aroE3</i>	Shikimat-5-Dehydrogenase	0,245	0,235	0,191	0,223	3	0,002
cg1836		putatives sekretiertes substanzbindendes Protein, ähnlich wie Aminoacyl-tRNA-synthetase	0,315	0,305	0,110	0,220	3	0,030
cg1839		putative ATPase, ähnlich zu Helicase Untereinheit der holliday-junction-Resolvase		1,068	0,998	1,032	2	0,049
cg1846		putativer Transkriptionsregulator, TetR-Familie	0,406	0,420	0,190	0,319	3	0,032
cg1847		hypothetisches Protein, konserviert	1,460	1,423	1,026	1,287	3	0,033
cg1848		putative Coenzym F420-abhängiges N5,N10-Methylentetrahydromethanopterin-Reductase oder Flavin-abhängig	1,295	1,413	1,331	1,345	3	0,001
cg1859		putatives sekretorisches Protein	0,528	0,662	0,588	0,590	3	0,015
cg1867	<i>secD</i>	Preprotein Translocase, Untereinheit	0,225	0,316	0,106	0,196	3	0,023
cg1869	<i>ruvB</i>	holliday-junction-DNA-Helicase		1,875	1,681	1,775	2	0,022
cg1870	<i>ruvA</i>	holliday junction DNA-Helicase-motorprotein		1,269	1,271	1,270	2	0,000
cg1873	<i>tesB2</i>	putative Acyl-CoA-thio-Esterase II		0,569	0,611	0,590	2	0,027
cg1874		putatives Membranprotein		1,640	2,017	1,819	2	0,042
cg1898		hypothetisches Protein, CGP3 Region		2,740	2,179	2,444	2	0,034
cg1902		putatives sekretorisches Protein, CGP3 Region		2,358	1,832	2,079	2	0,044
cg1903		putatives ABC-Typ Multidrugtransportsystem, ATPase Komponente	1,344	1,774	2,253	1,752	3	0,020
cg1904		putatives Membranprotein, CGP2 Region	1,562	2,311	1,657	1,815	3	0,012
cg1917		hypothetisches Protein, CGP3 Region		2,738	4,162	3,376	2	0,048
cg1918		putatives sekretorisches Protein, CGP3 Region	0,614	0,486	0,473	0,521	3	0,014
cg1949		hypothetisches Protein, CGP3 Region		1,181	1,262	1,221	2	0,025
cg1962		putatives Membranprotein, CGP2 Region		0,517	0,593	0,554	2	0,050
cg1968		hypothetisches Protein, CGP3 Region		1,247	1,206	1,226	2	0,006
cg1975		hypothetisches Protein, CGP3 Region	2,599	1,734	3,357	2,473	3	0,015
cg1990		putative NUDIX Hydrolase, CGP3 Region	0,975	0,976	0,980	0,977	3	0,000
cg1992		hypothetisches Protein, CGP3 Region		1,692	1,906	1,796	2	0,024
cg2001		hypothetisches Protein, CGP3 Region		3,700	2,682	3,150	2	0,039
cg2006		hypothetisches Protein, CGP3 Region		0,799	0,798	0,798	2	0,000
cg2025		hypothetisches Protein, CGP3 Region		0,219	0,199	0,209	2	0,010
cg2034		hypothetisches Protein, CGP3 Region	1,489	1,764	1,915	1,713	3	0,005
cg2037		hypothetisches Protein, CGP3 Region	1,218	1,089	1,381	1,224	3	0,016
cg2043		hypothetisches Protein, CGP3 Region	0,433	0,431	0,449	0,438	3	0,000

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg2051		hypothetisches Protein, CGP3 Region	1,209	1,798	2,418	1,738	3	0,035
cg2061	<i>psp3</i>	putatives sekretorisches Protein, CGP3 Region	0,496	0,543	0,466	0,501	3	0,003
cg2069	<i>psp1</i>	putatives sekretorisches Protein, CGP3 Region	0,370	0,478	0,380	0,406	3	0,006
cg2071	<i>int2'</i>	putative Phagenintegrase (N-terminales Fragment), CGP3 Region		1,809	1,914	1,861	2	0,008
cg2078	<i>msrB</i>	Peptidmethioninsulfoxid-Reductase-ähnliches Protein	1,079	1,495	1,376	1,305	3	0,023
cg2079		putative Chlorit-Dismutase, konserviert		6,415	3,825	4,954	2	0,046
cg2080		hypothetisches Protein, konserviert		1,719	1,506	1,609	2	0,031
cg2081	<i>rnd</i>	putative Ribonuclease D	1,650	2,056	2,322	1,990	3	0,007
cg2090	<i>suhB</i>	Myo-inositol-1(oder 4)-mono-Phosphatase	1,451	2,662	4,299	2,551	3	0,036
cg2098		hypothetisches Protein		1,444	1,260	1,349	2	0,045
cg2102	<i>sigB</i>	RNA Polymerase sigma Faktor		3,506	3,803	3,652	2	0,007
cg2103	<i>dtxR</i>	Diphtheriatoxinrepressor	1,633	2,390	1,953	1,968	3	0,008
cg2109	<i>oxyR</i>	Hydrogenperoxidesensorregulator, Lys-Familie	1,399	1,675	1,605	1,555	3	0,004
cg2110		putatives Membranprotein		4,337	6,132	5,157	2	0,030
cg2115	<i>sugR</i>	Transkriptionsregulator, DeoR-Typ		0,906	0,893	0,899	2	0,003
cg2121	<i>ptsH</i>	Phosphocarrierprotein HPR		2,825	2,392	2,599	2	0,023
cg2134		putatives Membranprotein		2,488	2,884	2,678	2	0,020
cg2136	<i>gluA</i>	Glutamataufnahmesystem, ABC-Typ, ATP-bindendes Protein	0,201	0,170	0,152	0,173	3	0,001
cg2137	<i>gluB</i>	Glutamataufnahmesystem, ABC-Typ, sekretiertes Bindepotein	0,293	0,120	0,159	0,178	3	0,014
cg2138	<i>gluC</i>	Glutamataufnahmesystem, ABC-Typ, Permease Untereinheit 1	0,398	0,156	0,193	0,228	3	0,022
cg2141	<i>recA</i>	Recombinase A		0,636	0,649	0,643	2	0,001
cg2155		hypothetisches Protein, konserviert		0,378	0,317	0,346	2	0,031
cg2159		hypothetisches Protein		2,045	1,776	1,906	2	0,027
cg2162	<i>thyX</i>	alternative Thymidylat-Synthase		1,340	1,179	1,257	2	0,049
cg2163	<i>dapB</i>	Dihydrodipicolinat-Reductase		1,753	1,651	1,701	2	0,010
cg2166	<i>gpsI</i>	Polyribonucleotidphosphorylase / Guanospentaphosphatesynthetase	0,360	0,491	0,258	0,357	3	0,022
cg2174		putatives Exopolyposphatase-ähnliches Protein		0,632	0,685	0,658	2	0,048
cg2181	<i>oppA</i>	ABC-Typ Peptidtransportsystem, sekretierte Komponente	0,131	0,015	0,026	0,037	3	0,020
cg2182	<i>oppB</i>	ABC-Typ Peptidtransportsystem, Permeasekomponente	0,306	0,032	0,038	0,072	3	0,038
cg2183	<i>oppC</i>	ABC-Typ Peptidtransportsystem, Permeasekomponente		0,333	0,234	0,279	2	0,050
cg2184	<i>oppD</i>	ATPase Komponente des Peptid-ABC-Typ-Transportsystems, beinhaltet dublierte ATPase Domäne		0,019	0,025	0,022	2	0,011
cg2187		Mg-Chelatase Untereinheit D	1,027	1,327	1,259	1,197	3	0,023
cg2190		hypothetisches Protein, konserviert		2,305	3,048	2,651	2	0,038
cg2193		putative Lysophospho-Lipase	2,032	1,654	1,806	1,824	3	0,003
cg2194	<i>gor</i> (<i>mtr</i>)	Dihydrodipicolinat-Dehydrogenase	1,611	2,109	1,776	1,820	3	0,005
cg2217	<i>frr</i>	Ribosomentlassungsfaktor		2,074	1,944	2,008	2	0,009
cg2222	<i>rpsB</i>	30S Ribosomalprotein S2	0,287	0,436	0,200	0,292	3	0,021
cg2240	<i>thiF</i>	Molybdopterin Biosyntheseprotein MoeB		0,304	0,395	0,347	2	0,046
cg2241	<i>tex</i>	Transkriptionshelferprotein, RNA-bindend	0,601	0,643	0,436	0,552	3	0,035
cg2247		hypothetisches Protein	1,613	1,691	2,118	1,794	3	0,006
cg2252		putative doppelsträngige beta-helix-Domäne	8,275	7,729	18,318	10,542	3	0,006
cg2262	<i>ftsY</i>	Signalerkennungspartikel GTPase		1,474	1,758	1,610	2	0,043
cg2274		putatives metalbindendes, möglicherweise nucleinsäurebindendes Protein		2,043	1,959	2,001	2	0,004
cg2275		putative Zellteilungsinitiationsprotein		2,230	2,634	2,423	2	0,024
cg2277		putatives ABC-Typ Multidrug/Protein/Lipid Transportsystem, transmembrane ATPase Komponente		1,747	2,078	1,905	2	0,033
cg2279		putatives ABC-Typ Multidrug/Protein/Lipid Transportsystem, transmembrane ATPase Komponente		1,609	1,557	1,583	2	0,003
cg2291	<i>pyk</i>	Pyruvat-Kinase	1,718	4,639	5,458	3,517	3	0,029
cg2304	<i>hisC</i>	Histidinol-phosphataminotransferase	1,268	1,666	1,162	1,349	3	0,025
cg2307		putatives Membranprotein	0,508	0,371	0,339	0,400	3	0,013

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg2308		putatives sekretorisches Protein	0,333	0,319	0,518	0,381	3	0,018
cg2310	<i>glgX</i>	Glycogenenzweigunsenzym		0,373	0,379	0,376	2	0,000
cg2311		putative SAM-abhängige Methyl-Transferase		7,038	6,936	6,987	2	0,000
cg2322		hypothetisches Protein, konserviert		0,762	0,756	0,759	2	0,000
cg2323	<i>treY</i>	Maltooligosyltrehalosesynthase	2,246	5,483	3,500	3,506	3	0,016
cg2324		hypothetisches Protein, konserviert	1,207	2,303	2,004	1,773	3	0,032
cg2333	<i>treZ</i>	Malto-oligosyltrehalosetrehalohydrolase	2,271	3,818	4,528	3,398	3	0,011
cg2336		putatives sekretorisches Protein	0,310	0,100	0,086	0,139	3	0,023
cg2337		putativ, ähnlich zu Methioninsynthase II (Cobalamin-unabhängig)		1,655	1,375	1,508	2	0,050
cg2341		putativer Co/Zn/Cd-Kationtransporter	1,532	1,243	1,804	1,509	3	0,016
cg2342		putative Dehydrogenase	3,364	2,915	3,656	3,297	3	0,001
cg2351		hypothetisches Protein	1,028	1,049		1,038	2	0,001
cg2356		putative Permease des Drug/Metabolittransporter (DMT) Superfamilie		0,530	0,471	0,500	2	0,034
cg2364		putatives pyridoxal-5'-phosphatabhängiges Enzym		1,564	1,361	1,459	2	0,039
cg2375	<i>ftsI</i>	penicillin-bindendes Protein		2,012	1,690	1,844	2	0,035
cg2376		putatives Sekretionsprotein		2,036	2,778	2,378	2	0,047
cg2378	<i>mraZ</i>	putatives MraZ Protein		1,839	2,110	1,970	2	0,025
cg2384	<i>ldsA</i>	putative Geranylgeranyl-pyrophosphat-Synthase		1,746	1,571	1,656	2	0,023
cg2385	<i>mptA</i>	alpha-1,6-Mannopyranosyl-Transferase		1,419	1,282	1,349	2	0,032
cg2390		putatives Membranprotein		0,311	0,266	0,287	2	0,022
cg2404	<i>qcrA</i> (<i>qcrA1</i>)	Cytochrom-bc ₁ -Komplex, Rieske Eisen-Schwefel-Protein	0,385	0,609	0,369	0,442	3	0,028
cg2409	<i>ctaC</i>	Cytochrom-aa ₃ -Oxidase, Untereinheit 2	0,454	0,328	0,131	0,269	3	0,046
cg2411		putatives Protein HesB/YadR/YthF-Familie, konserviert		2,751	4,272	3,428	2	0,049
cg2414	<i>cobT</i>	Nicotinate-nucleotide-dimethylbenzimidazolphosphoribosyl-Transferase	0,692	0,500	0,474	0,547	3	0,033
cg2417		putative kurzkettige Dehydrogenase/Oxidoreductase		1,756	2,153	1,944	2	0,038
cg2419	<i>pepB</i>	Leucyl-amino-Peptidase		2,192	1,810	1,992	2	0,035
cg2420		hypothetisches Protein, konserviert		1,913	1,841	1,876	2	0,003
cg2421	<i>aceF</i> (<i>sucB</i>)	Dihydrodipicolinat-acetyl-Transferase	1,014	1,677	1,275	1,294	3	0,050
cg2425	<i>sucE</i>	Succinatexporter	1,786	6,353	5,942	4,070	3	0,031
cg2432		putativ, MUTT/NUDIX Familie		3,460	5,001	4,160	2	0,036
cg2434		putative luciferase-ähnliche Monooxygenase		2,380	2,806	2,585	2	0,023
cg2437	<i>thrC</i>	Threonin-Synthase	1,193	1,409	0,970	1,177	3	0,046
cg2441		putative Permease, Hauptfacilitator Superfamilie		0,587	0,615	0,601	2	0,015
cg2443		putative Permease, Hauptfacilitator Superfamilie	1,140	1,405	1,195	1,242	3	0,012
cg2451		hypothetisches Protein, konserviert		3,470	4,896	4,121	2	0,034
cg2455		putative Ribonuclease HI		2,941	3,382	3,154	2	0,016
cg2456		putatives Zn-Bandprotein, möglicherweise nucleinsäurebindend	1,858	2,867	3,615	2,680	3	0,014
cg2457		hypothetisches Protein, konserviert	1,417	1,922	3,474	2,115	3	0,037
cg2458	<i>pgp2</i>	vorhergesagte Phosphatase, HAD Familie		4,249	6,485	5,249	2	0,037
cg2459	<i>ptpA</i>	Protein-tyrosine-Phosphatase		4,589	6,040	5,265	2	0,024
cg2460		putatives Membranprotein	1,758	2,473	2,988	2,351	3	0,011
cg2466	<i>aceE</i>	putative Pyruvat-Dehydrogenase Untereinheit E1	1,404	5,987	3,033	2,943	3	0,048
cg2471		putatives Protein, schwach konserviert	2,038	1,373	2,508	1,914	3	0,022
cg2472		putative Hydrolase oder Acyl-Transferase	1,674	2,837	3,632	2,584	3	0,020
cg2473	<i>acpM</i>	Acylcarrierprotein (ACP)		2,056	1,701	1,870	2	0,037
cg2482		hypothetisches Protein		1,374	1,326	1,350	2	0,005
cg2488		hypothetisches Protein, konserviert	2,156	1,840	2,208	2,061	3	0,002
cg2492	<i>glmS</i>	D-Fructose-6-phosphatamido-Transferase	0,294	0,371	0,290	0,316	3	0,003
cg2496		putativ sekretiertes Protein	1,547	3,834	5,278	3,151	3	0,035
cg2500	<i>znr</i>	putativer Transkriptionsregulator, ArsR-Familie	2,292	3,722	8,893	4,233	3	0,028
cg2519		hypothetisches Protein, konserviert		1,301	1,364	1,332	2	0,011
cg2521	<i>fadD15</i>	langkettige Fettsäure-CoA-Ligase		3,143	2,469	2,786	2	0,032

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg2523	<i>malQ</i>	4-alpha-Glucano-Transferase	1,096	1,941	1,402	1,440	3	0,042
cg2527	<i>dcp</i>	putative Peptidyl-Di-peptidase A	1,169	2,273	1,532	1,597	3	0,041
cg2529	<i>treS</i>	Trehalose-Synthase (Maltose-alpha-D-glucosyl-Transferase)	1,196	1,844	1,491	1,487	3	0,023
cg2530	<i>treX</i>	mögliche Trehalose-Synthase		1,731	1,514	1,619	2	0,032
cg2536	<i>metC (aceD)</i>	Cystathionin-beta-Lyase		3,401	3,143	3,269	2	0,008
cg2555		hypothetisches Protein	1,794	1,163	1,897	1,582	3	0,028
cg2556		putatives eisenreguliertes Membranprotein	1,670	1,837	2,292	1,916	3	0,006
cg2558		putatives Proetin, ähnlich wie Aldose 1-epimerase		2,882	4,493	3,598	2	0,048
cg2560	<i>aceA</i>	Isocitrat-Lyase		0,159	0,195	0,176	2	0,020
cg2564		hypothetisches Protein		2,175	2,871	2,499	2	0,040
cg2567		hypothetisches Protein	1,621	1,379	2,351	1,739	3	0,022
cg2572		hypothetisches Protein, konserviert		1,492	1,471	1,482	2	0,000
cg2576		putative DNA-Polymerase III Untereinheit delta		1,084	1,076	1,080	2	0,000
cg2599		putatives Pirin-ähnliches Proteinfragment	1,743	2,274	5,046	2,714	3	0,034
cg2605		putative Acetyl-Transferase		6,014	7,834	6,864	2	0,020
cg2610		putatives ABC-Typ Dipeptid/Oligopeptid/Nickeltransportsystem, sekretierte Komponente	0,367	0,050	0,047	0,095	3	0,042
cg2612		putatives Rossmann-fold nucleotidbindendes Protein	1,702	7,143	7,662	4,534	3	0,038
cg2613	<i>mdh</i>	Malat-Dehydrogenase	3,300	9,632	11,116	7,070	3	0,016
cg2617	<i>vanB</i>	Vanillat-Demethylase	0,375	0,060	0,048	0,103	3	0,042
cg2618	<i>vanK</i>	Transporter (Vanillat/Protocatechuat)		0,137	0,120	0,128	2	0,011
cg2620		ATP-abhängige Protease, ATP-bindende Untereinheit	4,376	4,058	2,896	3,718	3	0,004
cg2623	<i>pcaI</i>	B-Ketoadipat-succinyl-CoA-Transferase Untereinheit		0,414	0,345	0,378	2	0,036
cg2626	<i>pcaD</i>	B-Ketoadipat-enol-lacton-Hydrolase		1,017	0,981	0,999	2	0,020
cg2627	<i>pcaO</i>	Transkriptionsregulator des 4-Hydroxybenzoats, Protocatechuate, p-Cresol Stoffwechselweg		2,434	3,238	2,808	2	0,037
cg2636	<i>cotA1 (cotA)</i>	Catechol 1,2-Dioxygenase	0,107	0,117	0,136	0,119	3	0,001
cg2662	<i>pepN</i>	Aminopeptidase N		2,637	2,162	2,388	2	0,030
cg2664		putative Typ IV Restriktions-Endonuclease	0,997	1,025	1,021	1,014	3	0,000
cg2684		putatives Membranprotein, DedA-Familie	1,320	2,215	1,215	1,526	3	0,044
cg2685		putative kurzketige Dehydrogenase/Reductase	3,028	4,921	8,586	5,039	3	0,014
cg2699		hypothetisches Protein, konserviert		1,520	1,479	1,499	2	0,002
cg2707		hypothetisches Protein, konserviert	0,406	0,591	0,567	0,514	3	0,026
cg2708	<i>msiK1</i>	ABC-Typ Zuckertransportsystem, ATPase Komponente	0,412	0,406	0,626	0,471	3	0,027
cg2716	<i>hyi</i>	Hydroxypyruvat-Isomerase	1,206	2,862	2,925	2,161	3	0,042
cg2728	<i>glgK</i>	Glutaminase	2,652	2,933	2,139	2,553	3	0,003
cg2735		putatives Membranprotein	1,158	1,176	1,429	1,248	3	0,014
cg2736	<i>bcp</i>	putative Bacterioferritin-Oxidoreductase	1,346	2,460	3,223	2,201	3	0,033
cg2738	<i>ocpS (ppt1)</i>	4'-Phosphopantetheinyl-Transferase	1,048	0,921	1,059	1,007	3	0,029
cg2741		hypothetisches Protein		1,566	1,393	1,477	2	0,032
cg2748		putatives Membranprotein, konserviert		1,873	2,192	2,026	2	0,028
cg2765		putatives sekretorisches Protein	0,623	0,617	0,390	0,531	3	0,047
cg2768		putative L-Aminopeptidase/D-Esterase		2,444	2,989	2,703	2	0,027
cg2772	<i>clpS</i>	ATP-abhängige Clp-Proteaseverbindungprotein		2,359	3,089	2,699	2	0,037
cg2782	<i>ftn</i>	ferritin-ähnliches Protein	5,210	2,951	11,523	5,617	3	0,020
cg2792	<i>nadE</i>	NAD ⁺ -Synthetase		1,698	2,171	1,920	2	0,047
cg2794		hypothetisches Protein, konserviert	1,649	4,312	7,583	3,778	3	0,039
cg2801	<i>ccrB⁺</i>	camphorresistentes Protein	0,919	1,088	1,042	1,014	3	0,034
cg2803		hypothetisches Protein, konserviert	1,153	1,091	1,687	1,285	3	0,046
cg2830	<i>pduO</i>	Adenosylcobalamin-abhängige-Dioldehydratase gamma	1,501	2,837	2,735	2,266	3	0,020
cg2833	<i>cysK</i>	O-Acetylserine-(thiol)-Lyase	1,243	2,405	3,062	2,091	3	0,039
cg2839		hypothetisches Protein, konserviert		2,546	3,269	2,885	2	0,032
cg2850		hypothetisches Protein, konserviert	1,517	2,716	2,365	2,136	3	0,017
cg2852		putative Aminomethyl-Transferase, GCVT-Homolog		2,580	2,490	2,535	2	0,002
cg2867	<i>gpx</i>	Glutathion-Peroxidase		2,988	2,671	2,825	2	0,014

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg2868	<i>nuc</i>	putative extrazelluläre Nuclease	1,279	1,016	1,086	1,122	3	0,026
cg2880		putative HIT-Familie Hydrolase	1,624	1,064	1,292	1,307	3	0,035
cg2888	<i>phoR (cgtR3)</i>	Zweikomponenten-Antwort-Regulator, Phosphatohomostase		1,806	1,959	1,881	2	0,014
cg2890		putatives Aminosäure verarbeitendes Enzym		4,994	6,361	5,636	2	0,020
cg2891	<i>pqo</i>	Pyruvat-chinon-Oxidoreductase		4,672	6,193	5,379	2	0,024
cg2894	<i>cgmR</i>	Multidrugresistenz-ähnlicher Transkriptionsfaktor, TetR-Familie	0,550	0,730	0,474	0,575	3	0,047
cg2895		putative Permease, Hauptfacilitator Superfamilie		0,556	0,576	0,566	2	0,006
cg2900	<i>ddh</i>	meso-Diaminopimelat-Dehydrogenase	1,470	2,279	2,601	2,058	3	0,018
cg2902		putative Hydrolase der HAD-Superfamilie		1,900	1,994	1,946	2	0,006
cg2904		hypothetisches Protein		0,782	0,752	0,767	2	0,047
cg2909	<i>otsB</i>	Trehalose-Phosphatase		1,930	1,697	1,810	2	0,026
cg2927	<i>scrB</i>	putative Sucrose-6-phosphat-Hydrolase	0,525	0,531	0,405	0,484	3	0,012
cg2929	<i>nagA1</i>	putative N-Acetylglucosamine-6-phosphat-Deacetylase		1,350	1,509	1,427	2	0,032
cg2937		putatives ABC-Typ Dipeptid/Oligopeptid/Nickeltransportsystem, sekretierte Komponente	0,118	0,025	0,125	0,071	3	0,022
cg2950	<i>radA</i>	putative ATP-abhängige Protease		0,946	0,928	0,937	2	0,005
cg2958	<i>butA</i>	L-2,3-Butandiol-Dehydrogenase/Acetoin-Reductase	3,238	6,345	16,151	6,923	3	0,023
cg2968		hypothetisches Protein, konserviert	1,345	2,179	3,238	2,117	3	0,034
cg2976		hypothetisches Protein, konserviert		1,453	1,326	1,388	2	0,027
cg2977		putatives Membranprotein	1,169	1,608	1,515	1,417	3	0,017
cg2987	<i>dacB</i>	D-Ala-D-Ala-carboxypeptidase		0,397	0,478	0,436	2	0,043
cg3001		putativer Transkriptionsregulator, MarR-Familie		1,018	0,981	0,999	2	0,023
cg3007	<i>ppk2B groEL (groEL2)</i>	Polyphosphat-Kinase		0,566	0,590	0,578	2	0,010
cg3011		Chaperonin	0,485	0,538	0,410	0,475	3	0,009
cg3013		hypothetisches Protein	0,453	0,732	0,520	0,557	3	0,049
cg3021	<i>tpdA</i>	putative Thiol Dipeptidase	1,389	1,606	2,848	1,852	3	0,035
cg3027	<i>mrpE2 (mrpE)</i>	Untereinheit 4 der Na ⁺ K ⁺ /H ⁺ Antiporter Mrp2	0,546	0,645	0,518	0,567	3	0,013
cg3029	<i>mrpG2 (mrpG)</i>	Untereinheit 6 der Na ⁺ K ⁺ /H ⁺ Antiporter Mrp2		0,394	0,410	0,402	2	0,005
cg3036	<i>xthA</i>	Exodeoxyribonuclease III		1,470	1,694	1,578	2	0,035
cg3037	<i>cls</i>	Cardiolipin-Synthetase	1,151	1,467	1,246	1,281	3	0,014
cg3045	<i>glnH</i>	Glutaminaufnahme oder -metabolismus		1,195	1,347	1,269	2	0,045
cg3046	<i>pknG</i>	Serine/Threoninprotein-Kinase	1,453	2,125	2,270	1,914	3	0,014
cg3048	<i>pta</i>	Phosphatocetyl-Transferase	0,246	0,103	0,128	0,148	3	0,011
cg3050		putative Acyltransferase		0,942	0,918	0,930	2	0,020
cg3053		putative Permease, Hauptfacilitator Superfamilie		0,266	0,344	0,303	2	0,039
cg3060	<i>cgt56</i>	Zweikomponenten-Sensor-Kinase	1,001	1,126	1,288	1,132	3	0,028
cg3073	<i>sseA1</i>	putative Thiosulfatsulfur-Transferase	2,922	2,171	7,744	3,662	3	0,031
cg3074		putativer Transkriptionsregulator, konserviert		0,363	0,348	0,355	2	0,004
cg3105		hypothetisches Protein		0,832	0,833	0,832	2	0,010
cg3114	<i>cysN</i>	Sulfatadenyl-Transferase Untereinheit 1	0,459	0,667	0,527	0,544	3	0,028
cg3119	<i>cysJ</i>	Sulfid-Reductase Flavoprotein	0,405	0,521	0,287	0,392	3	0,024
cg3120		hypothetisches Protein, konserviert	3,267	1,617	4,365	2,846	3	0,027
cg3125	<i>tctA</i>	Citratenaufnahmetransporter, Membranuntereinheit		0,307	0,366	0,335	2	0,030
cg3127	<i>tctC</i>	Citratenaufnahmetransporter, substratbindendes Protein		0,222	0,281	0,250	2	0,030
cg3131		putative Acetylornithindeacetylase oder ähnliche Deacetylase	1,076	1,814	2,046	1,587	3	0,043
cg3134		putative ABC-Typ		0,119	0,118	0,119	2	0,000
cg3141	<i>hmp</i>	Flavohemoprotein	26,816	103,36	590,69	117,86	3	0,016
cg3149	<i>aloT</i>	Aminotransferase, Alanin, Glutamat, 2-Aminobutyrat und Aspartat	0,464	0,370	0,254	0,352	3	0,019
cg3155	<i>dcd</i>	Deoxycytidin-triphosphat-Deaminase		1,492	1,814	1,645	2	0,046
cg3159		putatives universales Stressprotein UspA oder ähnlich zu Nucleotid-bindendem Protein	2,270	2,803	5,266	3,224	3	0,017

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg3160		putatives sekretorisches Protein		1,136	1,123	1,130	2	0,000
cg3167		hypothetisches Protein	1,673	1,878	1,900	1,814	3	0,001
cg3172	<i>trmB</i>	tRNA (Guanine-N(7)-)Methyl-Transferase		1,920	1,780	1,849	2	0,013
cg3173		hypothetisches Protein, konserviert		2,201	2,072	2,136	2	0,008
cg3174	<i>mmpL1</i>	Exporter der MMPL-Familie		3,971	2,987	3,444	2	0,032
cg3186	<i>cmt2</i>	Trehalosecorynomycyl-Transferase	0,609	0,456	0,298	0,436	3	0,043
cg3189	<i>ubiA</i>	Polyprenyl-Transferase	0,362	0,524	0,300	0,385	3	0,020
cg3190		putative membrane-assoziierte Phospholipid-Phosphatase	0,390	0,422	0,309	0,371	3	0,006
cg3192		putativ sekretiertes oder Membranprotein	2,502	5,181	8,583	4,809	3	0,020
cg3193		putative membranassoziierte Phospholipid-Phosphatase	1,648	1,574	3,591	2,104	3	0,038
cg3202	<i>farR</i>	Transkriptionsregulator, GntR-Familie	1,681	1,786	3,395	2,168	3	0,026
cg3203		hypothetisches Protein, konserviert		1,357	1,559	1,455	2	0,039
cg3207	<i>pheA</i>	Prephenat-Dehydratase	0,671	0,563	0,411	0,538	3	0,044
cg3218		putatives Protein	1,880	5,113	5,000	3,636	3	0,024
cg3219	<i>ldhA</i>	NAD-abhängige L-Lactat-Dehydrogenase	4,940	28,408	33,235	16,708	3	0,020
cg3221		putative Hydrolase der HAD Superfamilie	1,427	1,220	1,327	1,322	3	0,004
cg3223		putative NADPH-abhängige FMN-Reduktase	1,523	1,905	2,983	2,053	3	0,023
cg3224	<i>lldR</i>	Repressor von cg3226, GntR-Familie	1,380	2,035	2,321	1,868	3	0,018
cg3225		putative Serine/Threonine-spezifische Phosphatase	1,753	1,806	2,057	1,867	3	0,002
cg3229		hypothetisches Protein		1,209	1,148	1,178	2	0,019
cg3234		putative metal-abhängige Amidase/Aminoacylase/Carboxypeptidase		1,241	1,338	1,289	2	0,025
cg3247	<i>hrrA</i> (<i>cgtR11</i>)	erster Zweikomponenten-Antwort-Regulator der Heme Homöostase	1,199	1,621	1,160	1,311	3	0,027
cg3254		putatives Membranprotein		2,741	2,721	2,731	2	0,000
cg3255	<i>uspA3</i>	universales Stressprotein		2,668	2,876	2,770	2	0,008
cg3257		hypothetisches Protein	1,600	2,436	5,321	2,748	3	0,039
cg3261		putativer Transkriptionsregulator, GntR-Familie	1,365	1,039	1,842	1,377	3	0,049
cg3283		hypothetisches Protein	1,649	3,180	4,267	2,818	3	0,025
cg3292		putatives Kupferchaperon	2,599	4,844	11,763	5,291	3	0,026
cg3303		putativer Transkriptionsregulator, PadR-Familie	1,538	4,157	5,739	3,323	3	0,037
cg3306	<i>rplI</i>	50S Ribosomalprotein L9	0,148	0,429	0,099	0,185	3	0,037
cg3307	<i>ssb</i>	Einzelstrang-DNA-bindendes Protein	0,253	0,391	0,100	0,214	3	0,038
cg3313	<i>mrcB</i>	Membran-carboxy-Peptidase, penicillinbindendes Protein		0,620	0,605	0,613	2	0,002
cg3315		putativer Transkriptionsregulator, MarR-Familie	1,120	1,819	1,610	1,486	3	0,030
cg3327	<i>dps</i>	hungerinduziertes DNA-Schutzprotein	4,356	8,665	15,903	8,435	3	0,013
cg3342		putatives sekretorisches Protein	1,190	1,133	1,219	1,180	3	0,001
cg3348		putatives Plasmiderhaltungssystem, HigA Homolog		0,592	0,560	0,576	2	0,018
cg3349	<i>nagL</i> (<i>genM</i>)	Maleylpyruvat-Isomerase		2,836	2,408	2,613	2	0,022
cg3350	<i>nagK</i> (<i>genF</i>)	Fumarylpyruvat-Hydrolase	1,815	2,937	3,202	2,575	3	0,012
cg3353	<i>nagT</i> (<i>genK</i>)	Gentisatransporter		0,336	0,302	0,319	2	0,016
cg3356		putativer Na ⁺ /H ⁺ -Dicarboxylatsymporter	0,375	0,317	0,109	0,234	3	0,040
cg3357	<i>tprpP</i>	tryptophan-spezifische Permease, 5-methyltryptophanresistent		0,779	0,767	0,773	2	0,001
cg3377		hypothetisches Protein, konserviert		0,482	0,435	0,458	2	0,025
cg3390		putativer Myo-Inositolkatabolismus, Zuckerphosphat-Isomerase/epimerase	0,177	0,095	0,224	0,156	3	0,011
cg3391	<i>oxiD</i> (<i>idhA1</i>)	Myo-Inositol-2-Dehydrogenase	0,230	0,074	0,121	0,127	3	0,014
cg3392	<i>oxiE</i> (<i>idhA2</i>)	Myo-Inositol-2-Dehydrogenase	0,604	0,225	0,306	0,347	3	0,046
cg3404		putatives sekretiertes siderophore-bindendes Lipoprotein	0,189	0,187	0,077	0,140	3	0,013
cg3407		putatives Membranprotein		0,894	0,881	0,888	2	0,006
cg3416		putatives Membranprotein	0,982	0,957		0,969	2	0,010

Gen #	Gen-name	Annotation	m-RNA-Verhältnis			Durchschnitt	n	p-value
			1	2	3			
cg3423	<i>trxC</i>	Thioredoxin		1,813	1,557	1,680	2	0,034
cg3427	<i>parA1</i>	ATPase, involviert in Chromosomenteilung		1,527	1,682	1,603	2	0,022
cg3432	<i>rpmH</i>	50S Ribosomalprotein L34	0,119	0,306	0,076	0,140	3	0,024
cg4005		putatives sekretorisches Protein, CGP1 Region	2,513	1,977	3,815	2,666	3	0,013

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Michael Bott für die Überlassung des Themas, seinem fortlaufenden Interesse an diesem Projekt sowie der kritischen Durchsicht dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Groth danke ich für die freundliche Übernahme des Zweitgutachtens.

Dr. Melanie Bocker danke ich sehr für die herzliche Betreuung, die Unterstützung während meiner Doktorarbeit und für die Durchsicht dieser Arbeit.

Bei allen aktuellen und ehemaligen Mitgliedern meiner Arbeitsgruppe, Boris, Brita, Christian, Doris, Ela, Graziella, Han-Min, Laura, Meike, Michael, Sabine, Simon, Steffi, Tina, Tomo, Uli und Xenia möchte ich mich für die schöne gemeinsame Zeit bedanken.

Bei Alex, Andreas und Jenni bedanke ich mich für viele erfrischende und unterstützende Gespräche zu Themen innerhalb und außerhalb des Instituts.

Darüber hinaus danke ich allen Institutsangehörigen des IBG-1 für die nette Atmosphäre und stete Bereitschaft zur Unterstützung. Außerdem danke ich Jochem für die GC-MS-Analysen.

Herrn Prof. Krämer und Katja danke ich für die Unterstützung bei den pH-Homöostasemessungen an der Universität Köln und die produktive Zusammenarbeit.

Ein ganz lieber Dank gilt Steffen für die schöne Zeit vor und während der Promotion, die er mir bereitet hat!

Mein größter Dank gilt meinen wunderbaren Eltern für die liebevolle und immerwährende Unterstützung! Durch ihr Vertrauen und ihre Liebe konnte ich zu dem Mensch werden, der ich heute bin.

Band / Volume 62

Regulatorische Aspekte der Expression und Sekretion heterologer Proteine in *Corynebacterium glutamicum*

A. R. Chattopadhyay (2013), VIII, 195 pp

ISBN: 978-3-89336-845-7

Band / Volume 63

***Gluconobacter oxydans* strain development: Studies on central carbon metabolism and respiration**

J. Richhardt (2013), III, 181 pp

ISBN: 978-3-89336-851-8

Band / Volume 64

Metabolic Engineering von *Corynebacterium glutamicum* für die Produktion einer Dicarbonsäure

A. Otten (2013), 98 pp

ISBN: 978-3-89336-860-0

Band / Volume 65

Rapid Development of Small-Molecule producing Microorganisms based on Metabolite Sensors

S. Binder (2013), 138 pp

ISBN: 978-3-89336-872-3

Band / Volume 66

Increasing the NADPH supply for whole-cell biotransformation and development of a novel biosensor

S. Solvej (2013), 130 pp

ISBN: 978-3-89336-900-3

Band / Volume 67

Expression, purification and biophysical characterization of human Presenilin 2

G. Yang (2013), 159 pp

ISBN: 978-3-89336-928-7

Band / Volume 68

Modifikationen der Atmungskette in *Corynebacterium glutamicum* und Rolle des Flavohämoproteins Hmp

L. Platzen (2013), IV, 119 pp

ISBN: 978-3-89336-931-7

Band / Volume 69

L-Cystein-Bildung mit *Corynebacterium glutamicum* und optische Sensoren zur zellulären Metabolitanalyse

K. Hoffmann (2014),vi, 83 pp

ISBN: 978-3-89336-939-3

Band / Volume 70

Metabolic engineering of *Corynebacterium glutamicum* for production of the adipate precursor 2-oxoadipate

M. Spelberg (2014), 118 pp

ISBN: 978-3-89336-954-6

Band / Volume 71

Design and application of metabolite sensors for the FACS-based isolation of feedback-resistant enzyme variants

G. Schendzielorz (2014), 129 pp

ISBN: 978-3-89336-955-3

Band / Volume 72

The development and application of a single cell biosensor for the detection of L-methionine and branched-chain amino acids

N. Mustafi (2014), 137 pp

ISBN: 978-3-89336-956-0

Band / Volume 73

Metabolic engineering of *Corynebacterium glutamicum* for production of L-leucine and 2-ketoisocaproate

M. Vogt (2014), VI, 92 pp

ISBN: 978-3-89336-968-3

Band / Volume 74

Pupylisierung in *Corynebacterium glutamicum*

A. Küberl (2014), VI, 163 pp

ISBN: 978-3-89336-969-0

Band / Volume 75

Tat-translocase composition in *Corynebacterium glutamicum* and the effect of TorD coexpression

D. Oertel (2014), v, 117 pp

ISBN: 978-3-89336-996-6

Band / Volume 76

The 6C RNA of *Corynebacterium glutamicum*

J. Pahlke (2014), II, 144 pp

ISBN: 978-3-95806-003-6

Band / Volume 77

Anaerobes Wachstum von *Corynebacterium glutamicum* durch gemischte Säurefermentation

A. Michel (2014), 145 pp

ISBN: 978-3-95806-010-4

Weitere **Schriften des Verlags im Forschungszentrum Jülich** unter
<http://www.zbw1.fz-juelich.de/verlagextern1/index.asp>



Gesundheit / Health
Band / Volume 77
ISBN 978-3-95806-010-4

 **JÜLICH**
FORSCHUNGSZENTRUM